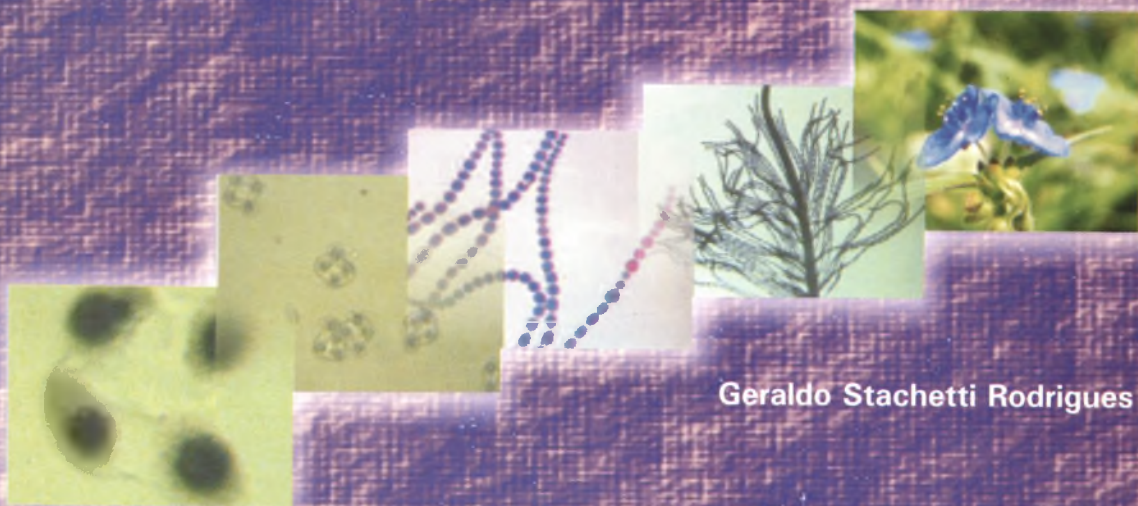




**Ministério
da Agricultura
e do Abastecimento**

ISSN 1516-4691

BIOENSAIOS DE TOXICIDADE GENÉTICA COM TRADESCANTIA



Geraldo Stachetti Rodrigues

Embrapa

Meio Ambiente

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Fernando Henrique Cardoso

Ministro da Agricultura e do Abastecimento: Marcus Vinícius Pratini de Moraes

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Presidente: Alberto Duque Portugal

Diretores: Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Elza Angela Battaglia Brito da Cunha

Embrapa Meio Ambiente

Chefe Geral: Bernardo van Raij

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento: Deise Maria Fontana Capalbo

Chefe Adjunto Administrativo: Vander Roberto Bisinoto

ISSN 1516-4691

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Meio Ambiente

Ministério da Agricultura e do Abastecimento



BIOENSAIOS DE TOXICIDADE GENÉTICA COM *TRADESCANTIA*

Geraldo Stachetti Rodrigues

Jaguariúna, SP - 1999

EMBRAPA MEIO AMBIENTE - Documentos 14

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho

Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP

Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740

sac@cnpma.embrapa.br

www.cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações: Aldemir Chaim

Célia M. M. de S. Silva

Franco Luchini

Júlio F. de Queiroz

Magda A. de Lima

Maria Cristina Tordin

Revisão: Denise Moraes de Oliveira

Normatização: Maria Amélia de Toledo Leme

Produção gráfica: Regina Lúcia Siewert Rodrigues e Franco Ferreira de Moraes

Tiragem: 500 exemplares

RODRIGUES, G.S. **Bioensaios de toxicidade genética com *Tradescantia***. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 56p. (Embrapa Meio Ambiente, Documentos 14).

CDD - 581.15

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	5
<i>TRADESCANTIA</i> E O BIOENSAIO DO MICRONÚCLEO.....	6
Trad-MCN: fundamentos e desenvolvimento do bioensaio.....	6
O ENSAIO TRAD-MCN COMO UM SISTEMA DE MONITORAMENTO PARA GENOTOXICIDADE NO AMBIENTE.....	10
Poluição do ar.....	10
Poluição aquática.....	12
Contaminantes e condicionantes do solo.....	15
Pesticidas, agentes químicos e estresses fisiológicos.....	17
Raios cósmicos e campos eletromagnéticos.....	20
<i>TRADESCANTIA</i> E O BIOENSAIO DO PÊLO ESTAMINAL.....	21
Trad-SHM: Fundamentos e desenvolvimento do bloensaio.....	21
O ensaio Trad-SHM como um sistema de monitoramento para genotoxicidade no ambiente.....	22
CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
ANEXOS (Tabelas).....	41

BIOENSAIOS DE TOXICIDADE GENÉTICA COM *TRADESCANTIA*¹

Geraldo Stachetti Rodrigues²

INTRODUÇÃO

Desde os primórdios dos estudos da atividade genética de compostos químicos e agentes físicos, várias espécies e clones do gênero *Tradescantia* têm sido utilizados como organismos experimentais, em virtude de uma série de características genéticas favoráveis. Apresentando apenas seis pares de cromossomos grandes e facilmente observáveis, células de quase todas as partes da planta, da ponta da raiz ao tubo polínico em desenvolvimento, fornecem material excelente para estudos citogenéticos (Ma & Grant, 1982).

Como consequência do uso intenso de *Tradescantia* em estudos genéticos, encontrou-se uma série de características que permitem a detecção de agentes que afetam a estabilidade do genoma. Pelo menos quatro dessas características foram selecionadas como indicadores em bioensaios de avaliação de toxicidade genética. Dois desses, o da mitose em ponta de raiz e o do tubo polínico, são ensaios de aberração cromossômica, nos quais se observam deformações morfológicas visíveis nos cromossomos (Ma, 1982). Um terceiro, o ensaio da mutação para célula cor-de-rosa em pêlo estaminal (Trad-SHM) (Underbrink et al., 1973b), é um teste de mutação mitótica pontual que se baseia na expressão de um gene recessivo para cor da flor em plantas

¹ Apoio CNPq. Processo número 520693-98-1.

² Ecólogo, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente. Caixa postal 69 - Cep 13820-000, Jaguariúna, SP.

heterozigotas. O quarto ensaio é um teste citogenético que se baseia na formação de micronúcleos (Trad-MCN) que resultam da quebra cromossômica nas células meióticas geradoras do pólen (Ma, 1979b).

No presente texto, examinam-se as características e fundamentos dos ensaios Trad-MCN e Trad-SHM e revisam-se os resultados até hoje obtidos com estes sistemas na avaliação de genotóxicos ambientais. Adicionalmente, apresentam-se os procedimentos para a execução de experimentos de avaliação de genotoxicidade ambiental, utilizando-se esses dois bioensaios vegetais. A descrição detalhada da metodologia para realização desses ensaios, bem como dos ensaios que empregam linhagens de milho e soja, está disponível na Circular Técnica da Embrapa Meio Ambiente, “Bioensaios de toxicidade genética com plantas superiores”.

TRADESCANTIA E O BIOENSAIO DO MICRONÚCLEO

Trad-MCN: fundamentos e desenvolvimento do bioensaio

Estudos sobre o genoma de *Tradescantia* iniciaram-se com os trabalhos pioneiros de Sax & Edmonds (1933) sobre o gametófito masculino de *T. reflexa* Raf., quando foram descritas as várias fases do desenvolvimento do micrósporo e determinados os períodos e o ritmo dos eventos meióticos. Observações importantes foram feitas sobre os efeitos de raios-X nos micrósporos dessa espécie (Sax & Edmonds, 1933). Primeiramente, observou-se que cromossomos meióticos eram mais suscetíveis a quebra (“breakage”) que cromossomos mitóticos e, mais importante, cromossomos em divisão eram ao menos dez vezes mais susceptíveis que aqueles em repouso.

Em segundo lugar, quebras (“breaks”) não se distribuíam aleatoriamente nos cromossomos. Loci posicionados proximamente aos centrômeros apresentavam maior probabilidade de sofrer ruptura sob efeito de radiação. Estas observações levaram à conclusão de que as tensões mecânicas resultantes da espiralação dos cromossomos durante a replicação aumentariam a ocorrência de quebras, influenciando fortemente a suscetibilidade a aberrações cromossômicas. Essas inferências seriam mais tarde confirmadas em um estudo dos efeitos da radiação gama gerada por ⁶⁰Co em *T. paludosa* And. and Woods. (Sparrow & Singleton, 1953). Os conceitos de temporalidade e sensibilidade que emergiram desses estudos tornaram-se extremamente importantes na seleção de bioindicadores para

mutagênese, uma vez que sincronia no desenvolvimento celular e precisão nos períodos de recuperação após os tratamentos mostraram-se dois fatores decisivos para a performance dos bioensaios.

A maior suscetibilidade dos cromossomos meióticos, quando comparados com os mitóticos, foi mais tarde confirmada em um estudo da influência da falta de oxigênio na meiose em *T. paludosa* (Steinitz, 1944). Esta pesquisa representou a primeira tentativa de observação de micronúcleos nas células mães do pólen, como indicadores diretos de fragmentação cromossômica. Uma taxa espontânea de 0,87% de células contendo micronúcleos foi definida para *T. paludosa*, aumentando para 8,0% em células expostas à anaerobiose nos estágios iniciais da prófase.

O ritmo dos estágios da meiose foi ainda melhor caracterizado em um estudo da diferenciação das anteras de *T. paludosa* (Taylor, 1950). O ciclo meiótico envolve aproximadamente 24h, período no qual deve ocorrer a exposição e um tempo de recuperação apropriado para que aquelas inflorescências expostas aos agentes tóxicos sejam fixadas para análise do número de micronúcleos, conseqüentemente da atividade genotóxica.

O crescente interesse nas capacidades radiomiméticas (especialmente genotóxicas) de substâncias químicas, nos anos 50, sugeriram a utilização de *Tradescantia* como um bioindicador. Um ensaio de mitose no tubo polínico foi primeiramente empregado em um estudo comparativo de agentes químicos simples em *T. paludosa* (Smith & Lofty, 1954). Óxido de etileno (um agente mutagênico conhecido), queteno (um composto com resultados inconclusivos), e cloreto de metila (um agente alquilante de baixa potência) foram comparados para indução de quebras em cromátides e aberrações cromossômicas. O ensaio do tubo polínico mostrou-se efetivo na detecção de genotoxicidade e os resultados revelaram que os compostos mais ativos (óxido de etileno e queteno) causavam mais numerosas e extensivas aberrações cromossômicas. A propícia seleção de compostos a serem testados nesta pesquisa permitiu a demonstração da sensibilidade da *Tradescantia* e sua capacidade para diferenciar precisamente efeitos comparativamente similares.

Numa série de artigos a respeito do papel de determinados nutrientes na meiose, a produção de micronúcleos nos micrósporos de *T. paludosa* foi tomada como indicativa de quebra cromossômica (Steffensen, 1953; Steffensen, 1954; Steffensen, 1955). Estudando os efeitos da deficiência em

magnésio (Mg) na meiose, o autor notou uma maior sensibilidade dos micrósporos quando comparados com pontas radiculares, de acordo com as evidências prévias de maior suscetibilidade de células meióticas que mitóticas. Micronúcleos apareciam em maior número em plantas deficientes em magnésio (Mg), cálcio (Ca) e enxofre (S). Note-se que os dois primeiros nutrientes são responsáveis pela ligação de macromoléculas no núcleo, contribuindo para a estabilidade de proteínas e DNA. Uma taxa espontânea de micronúcleos de 0,84% foi registrada, aumentando para 3,89% em plantas cultivadas em meio deficiente em Ca (Steffensen, 1955). Esses números vieram corroborar observações prévias de produção de micronúcleos em *T. paludosa* (Steinitz, 1944, anteriormente citado).

Mais de 30 anos após a observação de micronúcleos para detecção de danos à meiose feita por Steinitz, Ma e colaboradores (1978) no Laboratório Nacional Brookhaven desenvolveram o ensaio do micronúcleo-na-tétrade (Trad-MCN). Empregando o clone híbrido 4430 (*T. hisutiflora* Bush x *T. subacaulis* Bush), eles compararam a produção de micronúcleos nas células mães do pólen com mutações para células cor-de-rosa nos pêlos estaminais de *Tradescantia* expostas ao conhecido agente mutagênico 1,2-dibromoetano (DBE).

Já naquele tempo, o ensaio da mutação em pêlos estaminais (Underbrink et al., 1973b) vinha sendo extensivamente empregado e era um teste reconhecido para mutagenese radiobiológica e química. O ensaio do micronúcleo, contudo, exibiu uma eficiência aproximadamente 36 vezes maior. Esta sensibilidade extraordinária foi creditada à especificidade muito menor do dano necessário para produzir micronúcleos, quando comparada à mutação nos pêlos estaminais. De acordo, poderia assumir-se que numerosos loci em quaisquer dos 12 cromossomos de *Tradescantia* estariam sujeitos a danos que resultariam em quebra dos cromossomos e, conseqüentemente, em micronúcleos. Em contraste, somente um locus em um único cromossomo poderia sofrer mutação para produção de células cor-de-rosa em pêlos estaminais (Ma et al., 1978).

A enorme sensibilidade e simplicidade do ensaio Trad-MCN foi ainda demonstrada em experimentos, nos quais baixas doses de raios-X eram comparadas com dois agentes mutagênicos conhecidos, metanosulfonato de etila (EMS) e azida sódica (NaN_3) em ambas formas, gasosa e líquida (Ma, 1979a). Uma dose de raios-X de apenas 20-rad induziu altas frequências de micronúcleos (23 MCN/100 tétrades), enquanto apenas 1,8 MCN/100 células

foram induzidos por 50-rad de raios-X em linfócitos humanos (Countryman e Heddle, 1976 citado em Ma, 1979a), ou 2,5 MCN/100 eritroblastos de camundongo em cultura de medula óssea expostas a 35-rad de raios-X (Janssen e Ramel, 1976 citado em Ma, 1979a). Enquanto ocorria 0,2% de mutações por rad no ensaio do pêlo estaminal (Trad-SHM), ocorria 1,6% MCN por rad no ensaio Trad-MCN. A relação entre dose e efeito no ensaio Trad-MCN com raios-X resultou num coeficiente de correlação de 0,99. Os resultados obtidos com os agentes químicos confirmaram estes dados, tanto em relação à sensibilidade quanto em relação ao efeito pela dose (Ma, 1979a).

Uma vantagem adicional do ensaio Trad-MCN é o curto período de exposição necessário para se completar um teste - apenas 6h, seguidas de uma recuperação de 24h, para permitir que as células tratadas na prófase atinjam o estágio de tétrade apropriado para contagem de micronúcleos. Esta periodicidade da meiose foi testada em um estudo da sensibilidade por estágios, usando exposição a raios-X em *T. paludosa* (Ma et al., 1980). Grupos de inflorescências receberam uma dose singular de 35 rad de raios-X, após o que inflorescências foram removidas e fixadas em intervalos de 3h, durante 48h pós-irradiação. Um pico de sensibilidade ocorreu depois de 24h, concordando com as observações de Taylor (1950). Um segundo pico apareceu após cerca de 39h, sugerindo que o início da prófase I e estágios pré-meióticos são também muito sensíveis.

O emprego do ensaio Trad-MCN para o monitoramento de agentes clastogênicos ambientais foi primeiramente proposto após estudos envolvendo agentes pró-mutagênicos e localidades poluídas (Ma, 1979b; Ma, 1981). Uma grande vantagem percebida nestes estudos é que nenhuma atividade enzimática externa é necessária para ativar os agentes pró-mutagênicos, dado que o aparato enzimático continuava totalmente funcional nas inflorescências extraídas das plantas e expostas nos tratamentos.

Por outro lado, várias limitações do ensaio Trad-MCN têm sido apresentadas. O teste, obviamente, oferece apenas um índice relativo de danos genéticos. Translocações, inversões e outros tipos de rearranjos nos cromossomos e cromátides não são revelados como micronúcleos, não sendo, portanto, detectados pelo ensaio. Não é possível tampouco extrapolar facilmente os resultados de frequência de micronúcleos para carcinogenicidade, e os passos metabólicos de agentes mutagênicos e promutagênicos podem ser

bastante diferentes em *Tradescantia* e outros organismos (especialmente mamíferos). Além disso, a alta sensibilidade do sistema resulta em variações consideráveis na frequência espontânea de micronúcleos em diferentes experimentos, requerendo um sempre cuidadoso controle das condições experimentais e a utilização simultânea de amostras controle (Ma, 1981).

Os procedimentos laboriosos e demorados para contagem de micronúcleos nas tétrades consistem em uma desvantagem adicional do teste Trad-MCN (Ma, 1990). Para sanar esta limitação, facilitando e padronizando o processo de contagem, um sistema de análise de imagens para micronúcleos foi desenvolvido (Ma et al., 1992b). O sistema computadorizado é capaz de realizar contagens a uma velocidade 3,5 vezes maior que a contagem manual, e com uma congruência de 90% nas frequências observadas.

Uma revisão relativamente recente do monitoramento *in situ* de agentes clastogênicos no ambiente (Ma, 1990) revelou que até 1990 cerca de 300 testes haviam sido conduzidos com o ensaio Trad-MCN, numa ampla variedade de situações. Cerca de 50% desses testes apontaram genotoxicidade. Amostras de águas e solos apresentaram resultados positivos em cerca de 60% das ocasiões estudadas. Na próxima seção, os estudos de monitoramento ambiental com Trad-MCN são apresentados e discutidos.

O ENSAIO TRAD-MCN COMO UM SISTEMA DE MONITORAMENTO PARA GENOTOXICIDADE NO AMBIENTE

Poluição do ar

Tradescantia foi exposta a vários locais poluídos no estado de Illinois (EUA) e a gases comumente encontrados em atmosferas poluídas numa combinação de testes *in situ*, no ambiente e *in vivo*, em laboratório (Ma et al., 1982). Ensaio *in situ* expondo as plantas por 2 a 6h em estacionamentos, áreas industriais, fazendas e laboratórios apresentaram resultados positivos, especialmente quando emissões de agroquímicos estavam envolvidas. Plantas expostas em um escritório, uma fazenda de criação animal e uma área residencial não apresentaram aumentos na frequência de micronúcleos. Quando fumigadas com os poluentes atmosféricos NO_2 , SO_2 , e O_3 , assim como ácido hidrazóico gasoso (HN_3) e EMS, as plantas também indicaram clastogênese,

sugerindo serem estes gases alguns dos possíveis agentes genotóxicos da atmosfera (Ma et al., 1982).

Como consequência de sua versatilidade, *Tradescantia* é indicada como um biomonitor para poluição de ambientes fechados, sendo que vários estudos têm avaliado sua proficiência para os baixos níveis de contaminação que costumeiramente ocorrem em ambientes residenciais. Dentre os resultados positivos já encontrados nessas situações, citam-se diversos odorizantes comerciais, fumaça de tabaco, *p*-diclorobenzeno (bolas de naftalina) e outros inseticidas indicados para uso doméstico, além de gases de combustão de óleo diesel (Ma & Harris, 1987a; Ma & Harris, 1987b).

Um grupo relativamente incomum de poluentes atmosféricos estudados *in situ* para clastogênese com o ensaio Trad-MCN foi o das fumaças químicas empregadas pelo exército norte-americano. Estes experimentos envolveram outros ensaios incluindo aberrações cromossômicas e trocas de cromátides irmãs ("sister chromatid exchange" - SCE) em um roedor (Schaeffer et al., 1987). As fumaças eram geradas a partir de diesel para tanques, "fogoil", e hexacloroetano. Todos estes compostos induziram eventos genotóxicos em ao menos uma das doses. Houve um alto grau de variabilidade (expressa como maiores desvios padrão na produção de micronúcleos) em todos os tratamentos realizados *in situ*, em relação aos controles de laboratório. Embora este efeito estatístico tenha sido discutido meramente como obscurecendo a relação dose-efeito dos resultados, isto pode ser indicativo de uma característica inerente deste bioensaio. Os botões menores das inflorescências jovens de *Tradescantia* estão sempre encobertos sob botões maiores e folhas, o que pode resultar em sua proteção contra exposição direta, especialmente em experimentos com poluentes atmosféricos, um efeito descrito por Ma (1979b).

Em um estudo realizado no México, avaliaram-se ao longo do ano os picos de frequência de micronúcleos em *Tradescantia* exposta a uma área pesadamente industrializada, uma área residencial e uma área de ocupação mista (Ruiz et al., 1992). Plantas expostas à área industrial sempre apresentavam mais micronúcleos que as plantas controle ao longo de todo o ano, enquanto plantas expostas à área residencial tendiam a apresentar incrementos na frequência de micronúcleos somente em meses específicos. O ensaio Trad-MCN permitiu a detecção de riscos de genotoxicidade causados por emissões de incineradores de lixo municipal (Ma et al., 1993b) e dos drenos de gases de aterros sanitários (Ma et al., 1993a; Ma et al., 1996).

Dos estudos acima mencionados, pode-se concluir que o ensaio Trad-MCN é adequado para a avaliação de contaminação atmosférica, seja de áreas pesadamente poluídas, industriais ou urbanas, ou sob condições normais de ambientes residenciais. Condições atmosféricas, como variações na velocidade e direção dos ventos, normalmente levam a variações estatísticas relativamente altas nos dados. Um resumo dos resultados obtidos com *Tradescantia* na avaliação da poluição atmosférica e agentes gasosos está disponível na Tabela 1.

Poluição aquática

Praticamente todo estudo que envolva a avaliação da presença de agentes mutagênicos em águas naturais deve incorporar um passo de concentração dos possíveis agentes tóxicos nas amostras a serem quimicamente analisadas. Isto ocorre devido à intrínseca baixa mutagenicidade dos agentes mais freqüentemente presentes nas águas, ou devido à sua concentração muito baixa, ou ambos.

A necessidade de concentração das amostras foi claramente demonstrada numa avaliação da probabilidade de se detectar um agente mutagênico em água, utilizando-se o teste de Ames (Johnston & Hopke, 1980). Neste estudo, propôs-se uma variável que ponderava a potência mutagênica e a concentração média de agentes mutagênicos orgânicos comumente encontrados em águas e a quantidade necessária do agente para induzir uma duplicação no número de células mutantes no teste de Ames. Considerando-se que: a) geralmente apenas alíquotas de 1ml são aplicadas por placa de teste, b) compostos orgânicos tipicamente ocorrem em águas em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$, e c) 95% dos agentes testados até o momento apresentavam uma dose de duplicação de pelo menos $1500\mu\text{g}$, concluiu-se que uma amostra ambiental média que permitisse a detecção de contaminantes com uma confiança de 95% deveria conter 1500L. Isto significa que um fator médio de concentração de seis ordens de magnitude seria necessário para reduzir o volume de uma tal amostra para os testes. Deduziu-se que a exposição a agentes mutagênicos presentes em água potável que ocorre no decorrer da vida de uma pessoa pode ser apreciável, mesmo que não seja possível detectar estes agentes nas amostras (Johnston & Hopke, 1980).

Talvez a qualidade mais importante do ensaio Trad-MCN, assim como de alguns outros bioensaios vegetais, é sua capacidade de detectar baixíssimos

níveis de toxicidade genética tanto em exposições de curto termo *in situ*, quanto em testes *in vivo* com amostras não concentradas. Isto foi demonstrado em um estudo de dois anos sobre a genotoxicidade das águas de um reservatório para coleta de água de abastecimento municipal e da água tratada proveniente desse reservatório (Ma et al., 1985). Amostras de água eram coletadas semanalmente e testadas para genotoxicidade e para presença de nutrientes e metais. Os resultados mais importantes desse estudo demonstraram uma recorrência sazonal na expressão de picos de frequência de micronúcleos, que coincidia com períodos de intensa precipitação e carreamento de solo e água dos campos de soja e milho ao redor do reservatório. A produção de micronúcleos nas amostras de água tratada seguia a tendência observada para as amostras do reservatório, mas os picos de frequência eram menores.

Em uma investigação complementar, os ensaios Trad-MCN foram conduzidos conjuntamente com o teste do micronúcleo em eritrócito de camundongo e amostras adicionais de um poço raso e outro de média profundidade existentes na mesma área do reservatório foram analisadas (Ma et al., 1987). Um padrão similar de frequência de micronúcleos seguindo-se a precipitação pesada ou derretimento de neve na bacia do lago foi detectado pelo ensaio Trad-MCN. Análises das amostras de água dos poços mostraram níveis detectáveis de compostos orgânicos, como cloreto de metileno, diclorobromoetano, tricloroetileno e tetracloroetileno. Os testes com eritrócitos de camundongo confirmaram os resultados, embora exposições por 6 meses às amostras tivessem sido necessárias, enquanto o ensaio Trad-MCN requisesse apenas exposições de 30h.

Estes experimentos acima descritos de avaliação da genotoxicidade de águas não podem ser qualificados como *in situ*, já que em todos os casos as amostras eram trazidas ao laboratório e ensaiadas sob condições controladas. A avaliação propriamente *in situ* de mutagenicidade em ambientes aquáticos somente tornou-se possível com a introdução do “aquatoon”, um aparato flutuante desenvolvido especificamente para sustentar material vegetal para exposição a corpos de água. O aquatoon foi empregado com sucesso em um estudo *in situ* da genotoxicidade dos efluentes de uma fábrica de papel e celulose na margem norte do Lago Superior, no Canadá (Grant et al., 1992). Os ensaios do micronúcleo e do pêlo estaminal em *Tradescantia* e o ensaio de aberração cromossômica em ponta radicular em *Vicia faba* L. foram aplicados no córrego que recebia os efluentes brutos e na baía do lago na qual este

córrego desaguava. O ensaio Trad-MCN e o ensaio com *V. faba* apresentaram resultados positivos após 24h de exposição em ambos os locais, enquanto o ensaio Trad-SHM produziu resposta inconclusiva. Além de serem mais sensíveis, os dois ensaios que apresentaram melhores resultados melhor se adaptaram às condições de experimentação *in situ*. Isso se deve ao fato de o material desses ensaios poder ser fixado imediatamente após a exposição, ao passo que o ensaio Trad-SHM requer longos períodos de recuperação em condições controladas antes da análise, o que traz dificuldades em condições de campo e durante o transporte das amostras.

Um estudo da genotoxicidade de efluentes industriais no México demonstrou incremento na frequência de micronúcleos no ensaio Trad-MCN, mesmo após diluição tripla dos efluentes (Ruiz et al., 1992). Da mesma maneira, as lixívia de um aterro sanitário abandonado há 20 anos apresentavam genotoxicidade após diluições de até 20 vezes, enquanto diluições menores que 10 vezes resultavam em efeitos tóxicos (Ma et al., 1993a).

A genotoxicidade de águas subterrâneas contaminadas com hidrocarbonetos policlorados (PAHs) tratadas em uma usina de purificação, implantada com o objetivo de descontaminar um dos mais importantes aquíferos da Áustria, foi avaliada numa série de experimentos com o ensaio Trad-MCN (Helma et al., 1993; Helma et al., 1994). Os métodos de purificação consistiam de filtração em carvão ativado e irradiação com luz ultra-violeta (UV). Amostras coletadas antes de qualquer tratamento exibiam atividade clastogênica e dependente da dose, após exposições por 24h. Quando tratadas no laboratório com quantidades crescentes de UV (até 1500J/m²), estas amostras exibiam aumento na frequência de micronúcleos de forma dose-dependente em relação à irradiação com UV, enquanto os resultados para o controle de água limpa irradiada com UV eram negativos. Os parâmetros químicos medidos rotineiramente na usina de purificação indicavam que as amostras filtradas em carvão ativado apresentavam qualidade de água potável. Em muitos casos, contudo, maiores frequências de micronúcleos foram registradas nessas amostras, tanto antes quanto após irradiação com UV. O mecanismo responsável por esses efeitos era provavelmente a ativação, pela luz UV, de poluentes da água a compostos genotóxicos. Tal conclusão se baseia no fato de a clastogenicidade das amostras irradiadas decrescer com a estocagem, com uma meia-vida de aproximadamente 1 dia. Os autores sugeriram que tratamentos similares com UV para águas de abastecimento poderiam produzir

compostos perigosos que pudessem passar sem serem detectados nas estações de tratamento (Helma et al., 1993; Helma et al., 1994).

Estudos sobre poluição aquática demonstram as aptidões e vantagens do ensaio Trad-MCN para a avaliação *in situ* de agentes genotóxicos no ambiente. A capacidade de detectar efeitos biológicos em amostras consideradas puras em análises químicas e a possibilidade de se evitarem os tediosos procedimentos de concentração de amostras, que podem resultar em perdas ou alteração nos compostos presentes, são características especialmente convenientes do método.

A Tabela 2 apresenta um resumo dos resultados obtidos com o ensaio Trad-MCN na avaliação de poluentes do ambiente aquático.

Contaminantes e acondicionantes do solo

Vários estudos têm avaliado a mutagenicidade de solos *in situ*, de extratos de solos de áreas contaminadas, antes e depois da aplicação de medidas de remediação e de materiais acondicionantes de solos propriamente ditos. Talvez o acondicionante edáfico produzido em maiores volumes no mundo seja o lodo de esgoto municipal. Em geral, o impacto desse material no ambiente se relaciona à sua contaminação por metais pesados (L'Hermite & Dehandtschttler, 1980), mas compostos orgânicos complexos são muitas vezes introduzidos nos sistemas de tratamento de esgotos. A possível genotoxicidade desses lodos foi avaliada em Chicago (EUA), utilizando dois bioensaios vegetais (pólen ceroso de milho e Trad-MCN) e duas linhagens de *Salmonella* no teste de Ames (Hopke et al., 1982). Todos esses ensaios indicaram que o lodo continha agentes capazes de induzir genotoxicidade, enquanto o ensaio Trad-MCN apontava que mesmo diluições quádruplas de lodo eram clastogênicas, aumentando significativamente a frequência de micronúcleos em *Tradescantia*.

A clastogenicidade de vários compostos químicos comumente encontrados em depósitos de resíduos perigosos foi estudada com o ensaio Trad-MCN, numa série de experimentos cujo objetivo era elucidar as possíveis interações sinérgicas ou antagonísticas dos compostos, quando ocorrendo em misturas (Sandhu et al., 1989). Inicialmente, sete compostos selecionados da Lista de Compostos Prioritários da Environmental Protection Agency (EPA) dos EUA (Waters et al., 1987) foram testados para determinar suas doses efetivas mínimas (DEMs). Cinco dos compostos testados produziram resultados

positivos e foram listados em ordem decrescente de potência no ensaio Trad-MCN, como segue: tetracetato de chumbo em dimetilsulfóxido (DMSO) (0,4 ppm), heptacloro em DMSO (2,0 ppm), dieldrin em DMSO (3,8 ppm), trióxido de arsênico em NaOH (4,0 ppm) e 1,2-benz[*a,h*]antraceno em etanol (12,5 ppm). Tetraclore etileno (TCE) e aldrin foram imiscíveis em água, impedindo exposição adequada em solução. Quando expostos na forma gasosa a 30ppm por 2h, TCE apresentou resposta positiva, mas aldrin não.

De posse desses resultados, Ma et al. (1992a) avaliaram a clastogenicidade dos compostos em misturas. Todas as misturas de TCE (um agente não clastogênico) e dieldrin (em concentrações abaixo da DEM) resultaram positivas, sugerindo uma interação sinérgica. Surpreendentemente, todas as misturas de tetracetato de chumbo e trióxido de arsênico (ambos potentes agentes clastogênicos) foram negativas, sugerindo uma interação antagônica. As outras combinações eram em geral levemente antagônicas, enquanto algumas misturas eram tóxicas, impedindo o desenvolvimento normal das tétrades. Essas complexas e, freqüentemente, imprevisíveis respostas induzidas por misturas de compostos químicos levaram os autores a concluir que avaliações *in situ* são necessárias quando vários compostos interagem, como normalmente acontece em depósitos de resíduos perigosos.

Gill & Sandhu (1992) expandiram esses estudos testando os mesmos compostos após incorporação no solo, o que permitiu o uso de *Tradescantia* intacta (inclusive raízes) e não apenas das inflorescências. A maioria dos resultados concordavam com os descritos acima, mas em alguns casos as interações no solo alteraram a expressão da clastogenicidade. Por exemplo, trióxido de arsênico e tetracetato de chumbo, embora não induzissem aumentos na freqüência de micronúcleos em solução (como em Ma et al., 1992a), o fizeram no solo. Em geral, plantas enraizadas produziram maiores freqüências de micronúcleos que apenas inflorescências tratadas em solução. Possíveis razões para esse efeito são aumento de eficiência na ativação metabólica das misturas no sistema radicular das plantas e por microrganismos do solo. Estes resultados demonstraram novamente que prever as atividades genotóxicas de misturas de compostos a partir da análise de seus componentes pode ser uma falácia, enfatizando o valor das avaliações *in situ*.

A importância dessas conclusões foi acentuada pela demonstração que ácidos tânico podem agir como sinérgicos na indução de clastogenicidade

em *Tradescantia* (Knasmuller et al., 1992). Exposição de *Tradescantia* por 24h a quantidades crescentes de ácidos tânico causou um aumento dramático e dependente da dose, nos efeitos clastogênicos de raios-X (35rad), enquanto ácidos tânico por si só mostraram apenas genotoxicidade moderada. Resultados similares foram obtidos com ácidos tânico em combinação com outros compostos químicos. Este resultado pode se revestir de grande importância, pois ácidos tânico estão presentes na maioria dos alimentos e bebidas, assim como em águas e solos naturais. Conseqüentemente, praticamente todo produto químico liberado no ambiente pode interagir e ser potencializado por ácidos tânico.

O valor do ensaio Trad-MCN como uma ferramenta na avaliação ambiental foi novamente enfatizado num estudo das medidas de biorremediação num depósito de resíduos perigosos (Baud-Grasset et al., 1993a; Baud-Grasset et al., 1993b). Solos pesadamente contaminados com creosoto (mais de 5.000ppm de PAHs) foram incubados com o fungo degradador de lignina *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall, por 8 semanas, e os extratos aquosos desses solos foram estudados com o ensaio Trad-MCN. Extratos dos solos pré-incubação eram altamente clastogênicos. *P. chrysosporium* causou uma diminuição na contaminação, duplicando a concentração de extrato de solo necessária para induzir uma freqüência de micronúcleos similar àquela previamente à incubação (de 1 para 2%). Novamente o ensaio Trad-MCN mostrou-se extraordinariamente sensível, permitindo a detecção de diferenças entre amostras proximamente comparáveis.

Os resultados obtidos com *Tradescantia* na avaliação de contaminantes do solo estão resumidos na Tabela 3.

Pesticidas, agentes químicos e estresses fisiológicos

Plantas são os receptores biológicos diretos dos pesticidas aplicados no campo. Conseqüentemente, não surpreende a atenção devotada aos estudos de toxicologia genética de pesticidas em plantas. Uma extensa revisão da genotoxicidade de pesticidas em plantas superiores (Sharma & Panneerselvan, 1990) listou um total de 178 ingredientes ativos testados em pelo menos uma de 31 espécies vegetais diferentes, empregando uma variedade de órgãos e parâmetros genéticos. Aproximadamente 30% dos compostos foram considerados genotóxicos, enquanto apenas 6% puderam ser considerados inócuos nesses termos.

Tradescantia aparece somente uma vez nessa revisão, indicando que esse ensaio não está entre os preferidos para avaliação da toxicidade genética de pesticidas, a despeito de sua sensibilidade e propriedade para avaliações em campo. As primeiras referências ao uso de *Tradescantia* para testar a genotoxicidade de pesticidas envolveram as atividades citológicas do inseticida mevinfós e do herbicida cianazina (Ahmed & Grant, 1972b) e do fungicida para tratamento de sementes Panogen 15® (metilmercúrio diciandiamida) (Ahmed & Grant, 1972a). Nesses casos, testou-se a aberração cromossômica em mitose de pontas radiculares. Ahmed & Grant (1972b) mostraram que mevinfós e cianazina induziam aumentos na frequência de aberrações, mas as doses estudadas foram elevadas (200 a 600ppm), consideradas muito extremas em termos de contaminação ambiental. Por outro lado, doses de apenas 10ppm de Panogen 15® causavam citotoxicidade, enquanto genotoxicidade óbvia era notada com apenas 1ppm (Ahmed & Grant, 1972a). Estes resultados apontam para possíveis riscos significativos à saúde nas operações de preparo de calda e aplicação, nos tempos em que este produto era comercialmente disponível.

Reconhecendo o mérito especial de se estudar agroquímicos *in situ*, Grant (1982) opinou que nenhum outro organismo seria tão útil quanto *Tradescantia* e não haveria qualquer teste tão adequado quanto o ensaio Trad-MCN para a avaliação dos riscos genéticos *in situ*. Estas afirmações foram verificadas em um estudo da genotoxicidade do inseticida malation usado no controle de pragas em uma casa de vegetação (Ma et al., 1983). Em um tratamento, vasos com plantas intactas foram pulverizados, simulando o controle convencionalmente usado. Tratamentos adicionais envolveram absorção de malation pelas inflorescências (com ou sem prévia dissolução com DMSO ou tratamento com a fração microssômica S-9 de fígado macerado de camundongo induzido com Aroclor¹²⁴⁸) e exposição de plantas intactas a vapores de malation gerados por aquecimento, em câmaras hermeticamente fechadas. Todas as exposições a soluções de malation, seja pulverizado ou absorvido pela inflorescência, foram negativas. Já as inflorescências expostas a vapores de malation sofreram um significativo aumento na frequência de micronúcleos, sugerindo que formas gasosas do pesticida podem ser particularmente efetivas (Ma et al., 1983).

As clastogenicidades do Bentlate® (benomil) e do tiofanato, dois fungicidas usados na conservação de frutos para armazenagem, foram

estudadas com o ensaio Trad-MCN em concentrações de 0,05 e 0,07%, respectivamente (Huang & Chen, 1993b; Huang & Chen, 1993c). Ambos agentes induziram altas frequências de micronúcleos.

Os resultados obtidos até o presente da genotoxicidade de pesticidas em *Tradescantia* são resumidos na Tabela 4.

Ma et al. (1984) apresentaram os resultados de 140 ensaios Trad-MCN realizados com uma variedade de agentes físicos e químicos. Os agentes foram classificados em 9 categorias (números entre colchetes indicam o número de agentes testados na categoria): (a) agentes reconhecidamente carcinogênicos/mutagênicos [15], (b) bebidas comuns [8], (c) produtos químicos comuns [30], (d) drogas comuns [32], (e) pesticidas [18], (f) produtos químicos de uso doméstico [16], (g) radiação ionizante e radioisótopos [3], (h) monitoramento *in situ* [13] e (i) misturas químicas complexas [8]. Alguns resultados positivos nesses grupos foram: (a) benzo[α]pireno (50 μ M), EMS (50mM) e azida sódica (0,2mM); (b) etanol (5%), café descafeinado (25%) e cola (50%); (c) vapores de formaldeído, óxido nitroso e dióxido de enxofre; (d) sacarina e aspirina; (e) Bladex® (cianazina), dicamba, vapores de diclorovós, hidrazida maléica, *p*-diclorobenzeno e Tordon® (picloran); (f) alguns odorizantes e cosméticos; (g) todas as formas de radiação; (h) vários locais poluídos; e (i) vários tipos de gases de combustão e amostras de água não concentradas. Entre os resultados negativos encontravam-se: (a) 1,2-benzantraceno, metil metanosulfonato e dinitrotolueno; (d) mitomicina C; e (e) atrazina, simazina e 2,4-D. De 39 agentes testados com o ensaio Trad-MCN e para os quais havia resultados disponíveis de testes de Ames, 26 forneceram os mesmos resultados, representando uma congruência de 67%. Para pesticidas, 11 de 18 agentes testados resultaram positivos. De 8 pesticidas testados, tanto em Trad-MCN quanto no teste de Ames, somente simazina forneceu resultados diferentes nos dois testes (Ma et al., 1984).

Os resultados disponíveis de avaliações das propriedades clastogênicas de agentes químicos selecionados e estresses fisiológicos em *Tradescantia* são apresentados na Tabela 5.



Raios cósmicos e campos eletromagnéticos

T. paludosa foi utilizada para estudar os efeitos potenciais de fatores associados a vôo espacial, como aceleração, vibração, falta de gravidade e radiação ionizante (Delone et al., 1986). As inflorescências foram fixadas quimicamente a vários intervalos de tempo desde o lançamento da nave, até após a aterrissagem e as figuras mitóticas dos micrósoros foram analisadas em termos de aberrações. Um tipo especial de aberração foi observado nesse material, consistindo de translocações não-recíprocas complexas e fragmentos esféricos. O surgimento de tais aberrações não estava associado com a duração do vôo, ou com lançamento ou aterrissagem. Especulou-se que o agente causativo seria o pesado bombardeio por radiação cósmica (Delone et al., 1986).

A sensibilidade de *Tradescantia* à radiação tem sido demonstrada em relação a raios-X, fontes radioisotópicas internas e externas e raios cósmicos. Similarmente, ondas longas de rádio e campos magnéticos de ondas curtas, presentes nas vizinhanças de antenas de transmissão, têm sido constatados como danosos a cromossomos em replicação. Em uma série de experimentos *in situ* (Haider et al., 1994), inflorescências de *Tradescantia* foram expostas em cinco distâncias de uma antena e em gaiolas plásticas (não isolante) e de Faraday (isolante eletromagnético), distribuídas ao redor de locais que excediam os padrões para campos elétricos da Associação Internacional de Proteção a Radiação. Todos os tratamentos resultaram em incrementos na frequência de micronúcleos quando comparados com os controles de laboratório e, mais importante, comparações entre amostras de gaiolas isolantes e não isolantes resultaram em diferenças altamente significantes (Haider et al., 1994). Este resultado é particularmente interessante, uma vez que ambos os grupos foram expostos a exatamente as mesmas condições ambientais, exceto pela influência da radiação eletromagnética. Uma relação dependente da dose com respeito à distância de exposição também suporta a conclusão de que os efeitos observados eram realmente devidos ao campo eletromagnético.

As atividades clastogênicas de raios-X e outras formas de radiação ionizante em *Tradescantia* estão resumidas na Tabela 6.

Em um estudo recente, apoiado pelo Programa Internacional de Segurança Química, a utilidade do ensaio Trad MCN juntamente com outros

três ensaios vegetais) foi avaliada com quatro compostos genotóxicos conhecidos (Grant & Salamone, 1994) em cinco diferentes laboratórios (Sandhu et al., 1994a; Sandhu et al., 1994b). Embora os resultados não tenham sido idênticos, houve boa concordância entre todos laboratórios, sugerindo que o ensaio Trad-MCN é um bioensaio confiável para detecção de agentes clastogênicos (Ma et al., 1994b).

Os estudos ora revisados demonstram que *Tradescantia*, e em particular o ensaio Trad-MCN, oferece um sistema muito sensível e facilmente manuseável para avaliações de toxicidade genética, especialmente para condições *in situ* indispensáveis em pesquisas ambientais.

TRADESCANTIA E O BIOENSAIO DO PÊLO ESTAMINAL

Trad-SHM: Fundamentos e desenvolvimento do bioensaio

O ensaio da mutação em pêlo estaminal (Trad-SHM) baseia-se em mutação pontual (mitótica) na qual é suprimida a expressão do caráter azul dominante em flores de plantas heterozigotas, resultando no aparecimento da cor rosa recessiva (Emmerling-Thompson & Nawrocky, 1982; Mericle & Mericle, 1967; Mericle & Mericle, 1971; Nayar & Sparrow, 1967). Os estudos iniciais com esse sistema centraram-se na avaliação dos efeitos genotóxicos e citotóxicos de radiação ionizante e empregaram as células meristemáticas dos pêlos estaminais do clone 02 de *Tradescantia*, em substituição a culturas microbianas. Nesse ensaio, crescimento normal de pêlos era considerado equivalente à formação de colônias, enquanto pêlos atrofiados correspondia a eliminação celular nas culturas, devido a efeitos severos, altamente deletérios ou letais. Em adição à utilização de mutação (alteração de cor) como indicador final das avaliações, alterações genotóxicas como expressão de células gigantes, duplas ou triplas, bifurcação e outras anomalias de crescimento eram também consideradas juntamente com a perda da integridade reprodutiva das células dos pêlos como indicadores de genotoxicidade (Nayar & Sparrow, 1967).

A base genética para expressão de células cor-de-rosa nos pêlos estaminais do clone 4430 de *Tradescantia* foi estabelecida por meio de cruzamentos recíprocos com a linhagem parental rosa e branca *T. subacaulis* Bush (Emmerling-Thompson & Nawrocky, 1980). Determinou-se que

pigmentação rosa era dependente de um par de alelos em um único locus, sendo azul (B) dominante sobre rosa (b) e demonstrou-se que o clone 4430 é homozigoto dominante para o locus branco. A identidade espectrofotométrica de ambos pigmentos, rosa e azul, de quatro clones diferentes de *Tradescantia* está determinada (Sanda-Kamigawara & Ichikawa, 1993).

Mutação para rosa e perda de integridade reprodutiva nos pêlos estaminais de várias espécies e híbridos de *Tradescantia* (Ichikawa & Sparrow, 1967a; Ichikawa & Sparrow, 1967b; Ichikawa & Sparrow, 1968; Ichikawa & Sparrow, 1969; Ichikawa et al., 1969; Sparrow & Ichikawa, 1967) tornaram-se importantes indicadores para o estudo da atividade genotóxica das radiações (Alvarez & Sparrow, 1965; Kappas et al., 1972; Nauman et al., 1976; Nauman et al., 1974; Sparrow et al., 1973; Underbrink et al., 1973a; Underbrink et al., 1971).

O ensaio Trad-SHM como um sistema de monitoramento para genotoxicidade no ambiente

Sparrow e colaboradores (1972) estudaram os efeitos de neutrons e raios-X com o ensaio Trad-SHM (clone 02), estabelecendo uma relação linear entre dose-resposta para ambos os agentes e uma dose duplicadora da taxa de mutação de apenas 1rad para raios-X. As freqüências espontâneas de mutação de várias espécies e híbridos de *Tradescantia* foram definidas com base em muitos anos de investigação no Brookhaven National Laboratory (Sparrow & Sparrow, 1976). Híbridos (i.e., clone 4430) e híbridos putativos (i.e., clone 02) apresentaram freqüências e variação menores na mutação espontânea, quando comparados com clones de espécies puras, e foram considerados mais adequados para experimentação.

Os efeitos da radioatividade natural sobre a expressão de mutações foram estudados em vôos orbitais (Sparrow et al., 1968) e pelo cultivo de *Tradescantia* em areia monazítica (Nayar et al., 1970). Notou-se que a taxa de mutação aumentava com todas as amostras e os radionuclídeos absorvidos pelas plantas eram muito mais efetivos que a simples radiação externa. Estes resultados foram mais tarde confirmados pela exposição de plantas a solos coletados no campo experimental de explosões atômicas das Ilhas Bikini (Ichikawa & Ishii, 1991). Solos que causavam aumentos significativos nas freqüências de mutação continham ^{137}Cs e ^{60}Co , entre outros radionuclídeos. Outros estudos

envolvendo a absorção de radionuclídeos incluem compostos de trítio (Nauman et al., 1979; Tano et al., 1984) e ^{131}I (Tano & Yamaguchi, 1979).

O ensaio Trad-SHM foi empregado *in situ* para monitorar radiação ionizante nas vizinhanças de usinas nucleares em um estudo de larga escala realizado no Japão (Ichikawa, 1981). Aumentos significativos nas frequências de mutação estavam correlacionados tanto com a direção preferencial dos ventos quanto com os períodos de efetivo funcionamento das usinas. Cebulski-Wasilewska (1992) observou incremento nas frequências de mutação em Trad-SHM correlacionadas com contaminação causada em Cracóvia pela explosão do reator de Chernobyl (a uma distância de 700km). Incrementos similares na taxa de mutação foram também notificadas de maio a junho de 1986 no Japão (mais de 800km de distância) (Ichikawa et al., 1996). Nesse caso, variações na taxa espontânea de mutação registradas em um período de 10 anos (1982 a 1992) sempre podiam ser explicadas pelo fator temperatura, ao contrário desse incremento em 1986. Exposições a radiação também permitiram a padronização do ensaio Trad-SHM em relação a variações de temperatura (Nauman et al., 1977a; Nauman et al., 1977b), dose (Nauman et al., 1977c; Nauman et al., 1975) e outras variáveis comuns das condições de experimentação (Underbrink & Sparrow, 1974; Underbrink et al., 1975a; Underbrink et al., 1975b).

A aplicabilidade do ensaio Trad-SHM a estudos de mutagenese química foi proposta por Underbrink et al. (1973b) e testada em comparação aos efeitos de radiação e EMS e DBE gasificados (Nauman et al., 1976). As respostas a agentes químicos apresentaram características similares àquelas dos raios-X (incremento exponencial seguido de saturação na frequência de células mutantes) e o clone 4430 foi mais sensível que o clone 02. Estes resultados foram posteriormente confirmados com uma variedade de compostos químicos e radionuclídeos (Tano, 1987; Tano, 1990; Tano & Yamaguchi, 1985). Nesses estudos, os agentes mutagênicos foram aplicados topicamente, diretamente sobre as inflorescências. Doses diminutas de 5 a 20pg de *N*-nitroso-*N*-metiluréia e *N*-nitroso-*N*-etiluréia e 100pg de EMS foram efetivas e detectáveis no teste Trad-SHM. O limite de detecção para radiação externa estava abaixo de 1rad.

Essa alta sensibilidade do ensaio Trad-SHM a agentes mutagênicos químicos foi primeiramente demonstrada após exposição acidental das plantas

(clone O2) a vapores que contaminavam o suprimento de ar de um laboratório de Brookhaven. Um incremento súbito na frequência espontânea de mutações levantou a suspeita que levou à descoberta da contaminação (Sparrow & Schairer, 1971). Estudos adicionais com Trad-SHM na avaliação de agentes químicos envolvem hidrazida maléica (Gichner et al., 1982b), MMS, EMS, DMS (dimetil sulfato) (Ichikawa et al., 1990; Ichikawa & Takahashi, 1978; Sanda-Kamigawara et al., 1991), compostos *N*-nitroso e vários solventes orgânicos, entre outros, assim como avaliações de ação sinérgica entre agentes químicos e entre estes e radiações (Badaev et al., 1989; Gichner et al., 1994; Gichner et al., 1982a; Gichner et al., 1988; Ichikawa, 1992; Ichikawa et al., 1990; Ichikawa et al., 1993; Kuglik et al., 1994; Sanda-Kamigawara et al., 1991; Shima & Ichikawa, 1994; Shima & Ichikawa, 1995a; Shima & Ichikawa, 1995b; Veleminsky et al., 1987; Villalobos-Pietrini et al., 1986).

Demonstrou-se que o ensaio Trad-SHM é ainda capaz de ativar agentes promutagênicos em agentes mutagênicos de ação direta (Gichner et al., 1980). Benzo- α -pireno, atrazina e vários compostos *N*-nitroso foram mutagênicos quando testados sem tratamento prévio com frações microssomais (Veleminsky & Gichner, 1988). Xiao e Ichikawa (1995; 1996) relataram a ativação de hidrazida maléica (MH) em um agente mutagênico por ação de peroxidase e demonstraram que MH agia sinérgicamente (Cebulska-Wasilewska et al., 1981) e antagonisticamente com raios-X quando esses eram aplicados antes e depois da MH, respectivamente. Os raios-X suprimiam a ativação da MH quando aplicados *a posteriori*. Uma revisão da mutagenicidade de radiações ionizantes e agentes químicos estudada com Trad-SHM foi oferecida por Ichikawa (1992).

Talvez a contribuição mais importante do ensaio Trad-SHM tenha sido uma série de estudos sobre poluição atmosférica realizados com um laboratório móvel, nos EUA (Schairer, 1979; Schairer & Sautkulis, 1982; Schairer et al., 1982; Schairer et al., 1979; Schairer et al., 1983). Ar obtido em locais poluídos induziam maiores frequências de mutações que ar filtrado das mesmas localidades ou ar coletado em áreas controle, como o Grand Canyon. A mutagenicidade de atmosferas poluídas (Sparrow & Schairer, 1974) tem sido também demonstrada nas vizinhanças de refinarias de óleo e complexos petroquímicos (Lower et al., 1983a), fundições de chumbo (Lower et al., 1978; Lower et al., 1983b), fábrica de remédios (Cebulska-Wasilewska

& Guminska, 1987) e incinerador municipal de resíduos sólidos (Ma, 1994; Ma et al., 1993b; Ma et al., 1996).

A atividade mutagênica de fumaças químicas usadas pelo exército Norte-Americano também foi avaliada com Trad-SHM. Respostas positivas foram obtidas com “fогоil” e diesel para tanques, bem como para sua combinação (Schaeffer et al., 1987). Ozônio, em concentrações ocasionalmente encontradas em áreas poluídas (300 a 800ppb), não apresentou mutagenicidade no ensaio Trad-SHM (Gichner et al., 1992; Rodrigues et al., 1996), embora tenha sido positivo em concentrações mais altas (Schairer, 1979). Uma revisão do Trad-SHM como um ensaio para agentes mutagênicos gasosos foi publicada sob os auspícios do Programa Gene-Tox, da “USEPA” (Van’t hof & Schairer, 1982).

Em adição a estudos de agentes gasosos, Trad-SHM tem sido usado para avaliação de ambientes aquáticos (Lower et al., 1985; Tano, 1989). Episódios de mutagenicidade nas águas de um reservatório no estado Norte-Americano do Missouri apresentavam correlação com eventos que promoviam a transferência dos agentes mutagênicos dos sedimentos para a coluna d’água (Lower et al., 1985). Grant e colaboradores (1992) analisaram *in situ* a genotoxicidade das águas em uma área do Lago Superior nas vizinhanças de uma fábrica de papel e celulose, usando Trad-SHM, Trad-MCN e o ensaio de aberração cromossômica com *Vicia faba*. Embora Trad-SHM fosse suficientemente sensível para detectar atividade mutagênica, o ensaio foi considerado inferior aos outros em termos de facilidade para manipulação em campo, sendo que áreas remotas trazem dificuldade para o cultivo das plantas no longo (14 dias) período de recuperação necessário para esse teste.

Há escassêz de informações sobre atividade mutagênica de pesticidas em Trad-SHM (Mohammad & Ma, 1983). Tomkins & Grant (1972) estudaram os efeitos de menazon (um inseticida do grupo *s*-triazina), metobromuron (herbicida do grupo das uréias substituídas) e Daconil 2787® (clorotalonil, fungicida do grupo dos hidrocarbonetos aromáticos clorados), embrulhando inflorescências de *Tradescantia* (clone O2) com algodão embebido em soluções dos pesticidas (1.500ppm). Nenhuma resposta positiva foi obtida. A mutagenicidade do herbicida e regulador de crescimento hidrazida maléica já foi demonstrada em ensaios Trad-SHM empregando o clone 4430 (Gichner et al., 1982b; Xiao & Ichikawa, 1995; Xiao & Ichikawa, 1996). O fungicida

derivado de benzimidazol Benlate® (benomil) foi testado em Trad-SHM (clone KU 20) em doses normalmente usadas na agricultura (0,5 a 4,0g/l) (Sakamoto & Takahashi, 1981). Novamente não houve resposta positiva. Em contraste com esses resultados, sete de nove inseticidas foram positivos quando testados com Trad-SHM empregando o clone 4430 (Huang & Chen, 1993a). Diclorvós (0,1%), ometoato (0,04%), metamidofós (9,05%), Meobal® (3,4-xylyl metilcarbamato) (0,05%), mevinfós (0,006%), Amobem® (cloramben, em verdade um herbicida) (0,045%) e metil tiofanato (0,07%) resultaram positivos, enquanto triclorfon (0,1%) e Bassa® (2-sec-butilfenil metilcarbamato) (0,02% - efeito tóxico registrado) foram negativos. Atrazina resultou mutagênica após exposição crônica do clone 4430 (Schairer & Sautkulis, 1982) e cianazina também foi notificada como mutagênica em Trad-SHM (sem referência ao clone utilizado) (Veleminsky & Gichner, 1988).

Um resumo dos resultados até hoje obtidos com Trad-SHM na avaliação de mutagênese ambiental está apresentado na tabela 7.

CONCLUSÃO

As abundantes informações básicas sobre a genética e o desenvolvimento de *Tradescantia* oferecem uma sólida estrutura de suporte para seu uso como um bioindicador para ensaios de toxicidade genética ambiental (Ma & Grant, 1982). Micronúcleos nas células mães dos grãos de pólen são facilmente observáveis, permitindo um baixo grau de incerteza nas avaliações e diminuindo a subjetividade presente no reconhecimento de aberrações cromossômicas, enquanto a indução de mutações para rosa em células dos pêlos estaminais oferece um indicador somático sensível de mutagênese. Adicionalmente, os ensaios com *Tradescantia* têm se provado valiosos nos estudos de sinergismo e antagonismo entre agentes químicos e entre estes e outros agentes genotóxicos, como radiações, uma propriedade valiosa para a avaliação de riscos genotóxicos em situações ambientais complexas (Shima & Ichikawa, 1995b).

Grant (1994) analisou recentemente a situação atual dos ensaios com plantas superiores para detecção de agentes mutagênicos ambientais, indicando as vantagens desses sistemas em relação à possibilidade de se realizarem avaliações *in situ*. Em um estudo recentemente patrocinado pelo

Programa Internacional de Seguridade Química, a utilidade dos dois ensaios com *Tradescantia* aqui discutidos (bem como outros três ensaios vegetais) foi avaliada com quatro reconhecidos agentes químicos genotóxicos (Grant & Salamone, 1994) em cinco laboratórios diferentes (Sandhu *et al.*, 1994a; Sandhu *et al.*, 1994b). Os resultados obtidos nesse estudo consubstanciaram o ensaio Trad-SHM como um sistema confiável para a averiguação das propriedades mutagênicas de agentes químicos (Ma *et al.*, 1994a). Em relação ao ensaio Trad-MCN, embora os resultados obtidos para os quatro agentes não tenham sido idênticos, houve uma boa concordância entre todos os laboratórios, sugerindo ser este um bioensaio confiável para clastogenicidade (Ma *et al.*, 1994b), e como indicado em recente revisão bibliográfica (Rodrigues *et al.*, 1997), Trad-MCN é especialmente apropriado para a monitoração de agentes genotóxicos *in situ*.

Em conclusão, os estudos aqui revisados demonstram que os ensaios baseados em *Tradescantia* oferecem sistemas facilmente manipuláveis e muito sensíveis para o estudo de toxicidade genética, especialmente para as condições *in situ* indispensáveis em estudos ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, M.; GRANT, W. F. Cytological effects of the mercurial fungicide Panogen 15 on *Tradescantia* and *Vicia faba* root tips. **Mutation Research**, v. 14, p. 391-396, 1972a.
- AHMED, M.; GRANT, W. F. Cytological effects of the pesticides phosdrin and bladex on *Tradescantia* and *Vicia faba*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 14, p. 157-165, 1972b.
- ALVAREZ, M. R.; SPARROW, A. H. Comparison of reproductive integrity in the stamen hair and root meristem of *Tradescantia paludosa* following acute gamma irradiation. **Radiation Botany**, v. 5, p. 423-430, 1965.
- BADAEV, S. A.; GICHNER, T.; POSPISIL, F.; VELEMSKY, J. Humic acids inhibit the formation but not the mutagenicity of N-methyl-N-nitrosourea. **Mutation Research**, v. 210, p. 9-13, 1989.
- BAUD-GRASSET, F.; BAUD-GRASSET, S.; BIFULCO, J. M.; MEIER, J. M.; MA, T. H. *Tradescantia* micronucleus test on the genotoxicity of PAH-contaminated soil after fungal treatment. **Ecotoxicology and environmental chemistry - a global perspective**. Lisbon: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, v 1993a. Abstracts, p. 303.

- BAUD-GRASSET, S.; BAUD-GRASSET, F.; BIFULCO, J. M.; MEIER, J. R.; MA, T. H. Reduction of genotoxicity of a creosote-contaminated soil after fungal treatment determined by the *Tradescantia* micronucleus test. **Mutation Research**, v. 303, p. 77-82, 1993b.
- CEBULSKA-WASILEWSKA, A. *Tradescantia* stamen-hair mutation bioassay on the mutagenicity of radioisotope-contaminated air following the Chernobyl nuclear accident and one year later. **Mutation Research**, v. 270, p. 23-29, 1992.
- CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; GUMINSKA, M. The application of somatic mutation frequency in *Tradescantia* to measurements of mutagenic activity of polluted air. **Folia Medica Cracoviensia**, v. 28, n. 1-2, p. 131-138, 1987.
- CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; LEENHOUTS, H. P.; CHADWICK, K. H. Synergism between EMS and X-rays for the induction of somatic mutations in *Tradescantia*. **International Journal of Radiation Biology**, v. 40, p. 163-173, 1981.
- DELONE, N. L.; ANTIPOV, V. V.; PARFENOV, G. P. New type of chromosomal mutation observed in *Tradescantia paludosa* microspores during experiments in space satellites. **Doklady Akademii Nauk Sssr**, v. 290, n. 4, p. 979-981, 1986.
- EMMERLING-THOMPSON, M.; NAWROCKY, M. M. Genetic basis for using *Tradescantia* clone 4430 as an environmental monitor of mutagens. **The Journal of Heredity**, v. 71, p. 261-265, 1980.
- EMMERLING-THOMPSON, M.; NAWROCKY, M. M. Evidence of gametic mutation for flower color in *Tradescantia*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 22, p. 403-408, 1982.
- GICHNER, T.; LANGEBARTELS, C.; SANDERMANN Jr., H. Ozone is not mutagenic in the *Tradescantia* and tobacco mutagenicity assays. **Mutation Research**, v. 281, p. 203-206, 1992.
- GICHNER, T.; LOPEZ, G. C.; WAGNER, E. D.; PLEWA, M. J. Induction of somatic mutations in *Tradescantia* clone 4430 by three phenylenediamine isomers and the antimutagenic mechanisms of diethyldithiocarbamate and ammonium metavanadate. **Mutation Research**, v. 306, n. 2, p. 165-172, 1994.
- GICHNER, T.; VELEMINSKY, J.; PANKOVA, K. Differential response to three alkylating nitroso compounds and three agricultural chemicals in the *Salmonella* (Ames) and in the *Tradescantia*, *Arabidopsis* and barley mutagenicity assays. **Biologisches Zentralblatt**, v. 101, p. 375-383, 1982a.
- GICHNER, T.; VELEMINSKY, J.; POKORNY, V. Somatic mutation induced by maleic hydrazide and its potassium and diethylamine salts in the *Tradescantia* mutation assay. **Mutation Research**, v. 103, p. 289-293, 1982b.
- GICHNER, T.; VELEMINSKY, J.; RIEGER, R. Antimutagenic effects of diethyldithiocarbamate towards maleic hydrazide and N-nitrosodiethylamine-induced mutagenicity in the *Tradescantia* mutagenicity assay. **Biologia Plantarum**, v. 30, n. 1, p. 14-19, 1988.

- GICHNER, T.; VELEMSKY, J.; UNDERBRINK, A. G. Induction of somatic mutations by the promutagen dimethyl nitrosamine in hairs of *Tradescantia* stamen. **Mutation Research**, v. 78, p. 381-384, 1980.
- GILL, B. S.; SANDHU, S. S. Application of the *Tradescantia* micronucleus assay for the genetic evaluation of chemical mixtures in soil and aqueous media. **Mutation Research**, v. 270, p. 65-69, 1992.
- GRANT, W. F. Cytogenetic studies of agricultural chemicals in plants. In: FLECK, R.A.; HOLLAENDER, A., ed.. **Genetic toxicology: an agricultural perspective**. New York: Plenum Press, 1982. p. 353-378. (Basic Life Sciences, 21).
- GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 175-185, 1994.
- GRANT, W. F.; LEE, H. G.; LOGAN, D. M.; SALAMONE, M. F. The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the *in situ* detection of mutagens in an aquatic environment. **Mutation Research**, v. 270, p. 53-64, 1992.
- GRANT, W. F.; SALAMONE, M. F. Comparative mutagenicity of chemicals selected for test in the International Program on Chemical Safety's collaborative study on plant systems for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 187-209, 1994.
- HAIDER, T.; KNASMULLER, S.; KUNDI, M.; HAIDER, M. Clastogenic effects of radiofrequency radiations on chromosomes of *Tradescantia*. **Mutation Research**, v. 324, p. 65-68, 1994.
- HELMA, C.; KNASMULLER, S.; SANYAL, R.; SOMMER, R.; SCHULTEHERMAN, R. The effect of UV-irradiation on the genotoxicity of contaminated groundwater detected by the *Tradescantia* micronucleus test. **Ecotoxicology and environmental chemistry - A global perspective** Lisbon: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1993. Abstracts, p. 303.
- HELMA, C.; SOMMER, R.; SCHULTE-HERMANN, R.; KNASMULLER, S. Enhanced clastogenicity of contaminated groundwater following UV irradiation detected by the *Tradescantia* micronucleus assay. **Mutation Research**, v. 323, p. 93-98, 1994.
- HOPKE, P. K.; PLEWA, M. J.; JOHNSTON, J. B.; WEAVER, D.; WOOD, S. G.; LARSON, R. A.; HINESLY, T. Multitechnique screening of Chicago municipal sewage sludge for mutagenic activity. **Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 140-147, 1982.
- HUANG, N.; CHEN, R. The report of using *Tradescantia* Stamen Hair mutation to test 9 insecticides. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 21, n. suppl. 22, p. 30, 1993a.
- HUANG, N.; CHEN, R. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) test on two agents used in fruit storage. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 21, n. suppl. 22, p. 30, 1993b.

- HUANG, N.; CHEN, R. Use of *Tradescantia* micronucleus assay in detecting the mutagenicity of two agents used in storing fresh fruit. **Ecotoxicology and environmental chemistry - A global perspective** Lisbon:Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1993c. Abstracts., p. 302.
- ICHIKAWA, S. *In situ* monitoring with *Tradescantia* around nuclear power plants. **Environmental Health Perspectives**, v. 37, p. 145-164, 1981.
- ICHIKAWA, S. *Tradescantia* stamen-hair system as an excellent botanical tester of mutagenicity: its response to ionizing radiations and chemical mutagens, and some synergistic effects found. **Mutation Research**, v. 270, p. 3-22, 1992.
- ICHIKAWA, S.; ISHII, C. Somatic mutation frequencies in the stamen hairs of *Tradescantia* grown in soil samples from the Bikini Island. **Japanese Journal Of Genetics**, v. 66, n. 1, p. 27-40, 1991.
- ICHIKAWA, S.; KANAI, H.; HARADA, H. Somatic mutation frequencies in *Tradescantia* stamen hairs treated with aqueous solutions of ethyl methanesulfonate and methyl methanesulfonate. **Japanese Journal of Genetics**, v. 65, p. 309, 1990.
- ICHIKAWA, S.; NAKANO, A.; KENMOCHI, M.; YAMAMOTO, I.; MURAI, M.; TAKAHASHI, E.; YAMAGUCHI, A.; WATANABE, K.; TOMIYAMA, M.; SUGIYAMA, K.; YOGO, A.; YAZAKI, T.; OKOMURA, M.; SHIMA, N.; SATOH, M.; YOSHIMOTO, M.; XIAO, L. Z. Yearly variation of spontaneous somatic mutation frequency in the stamen hairs of *Tradescantia* clone KU 9 grown outdoors, which showed a significant increase after the Chernobyl accident. **Mutation Research**, v. 349, p. 249-259, 1996.
- ICHIKAWA, S.; SPARROW, A. H. Radiation-induced loss of reproductive integrity in the stamen hair of *Tradescantia blossfeldians* Mildbr., a twelve-ploid species. **Radiation Botany**, v. 7, p. 333-345, 1967a.
- ICHIKAWA, S.; SPARROW, A. H. Radiation-induced loss of reproductive integrity in the stamen hairs of a polyploid series of *Tradescantia* species. **Radiation Botany**, v. 7, p. 429-441, 1967b.
- ICHIKAWA, S.; SPARROW, A. H. The use of induced somatic mutations to study cell division rates in irradiated stamen hairs of *Tradescantia virginiana* L. **Japanese Journal of Genetics**, v. 43, p. 57-63, 1968.
- ICHIKAWA, S.; SPARROW, A. H. Analyses of radiation-induced loss of reproductive integrity in *Tradescantia* stamen hairs, an essentially single meristematic-cell system. **Japanese Journal of Genetics**, v. 44, p. 23-24, 1969.
- ICHIKAWA, S.; SPARROW, A. H.; THOMPSON, K. H. Morphologically abnormal cells, somatic mutation and loss of reproductive integrity in irradiated *Tradescantia* stamen hairs. **Radiation Botany**, v. 9, p. 195-211, 1969.
- ICHIKAWA, S.; TAKAHASHI, C. S. Somatic mutations in *Tradescantia* stamen hairs exposed to ethyl methanesulfonate. **Environmental and Experimental Botany**, v. 18, p. 19-25, 1978.

- ICHIKAWA, S.; YAMAGUCHI, A.; OKUMURA, M. Synergistic effects of methyl methanesulfonate and X-rays in inducing somatic mutations in the stamen hairs of *Tradescantia* clones, KU 27 and BNL 4430. **Japanese Journal of Genetics**, v. 68, n. 4, p. 277-292, 1993.
- JOHNSTON, J. B.; HOPKE, P. K. Estimation of the weight-dependent probability of detecting a mutagen with the Ames assay. **Environmental Mutagenesis**, v. 2, p. 419-424, 1980.
- KAPPAS, A.; SPARROW, A. H.; NAWROCKY, M. M. Relative biological effectiveness (RBE) of 0.43-Mev neutrons and 250-Kvp X-rays for somatic aberrations in *Tradescantia subacaulis* Bush. **Radiation Botany**, v. 12, p. 271-281, 1972.
- KNASMULLER, S.; KIM, T. W.; MA, T. H. Synergistic effect between tannic acid and X-rays detected by the *Tradescantia* micronucleus assay. **Mutation Research**, v. 270, p. 31-37, 1992.
- KUGLIK, P.; VESELSKA, R.; RELICHOVA, J. Sensitivity of plant cytogenetic and genetic short-term assays for evaluating genetic damage induced by chemical mutagens. **Cell Biology International**, v. 18, n. 5, p. 543, 1994.
- L'HERMITE, P.; DEHANDTSCHTTLER, J., ed. **Copper in animal wastes and sewage sludge**. London: D. Reidel 1980. 378 p.
- LOWER, W. R.; DROBNEY, V. K.; AHOLT, B. J.; POLITTE, R. Mutagenicity of the environments in the vicinity of an oil refinery and a petrochemical complex. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, v. 3, p. 65-73, 1983a.
- LOWER, W. R.; ROSE, P. S.; DROBNEY, V. K. *In situ* mutagenic and other effects associated with lead smelting. **Mutation Research**, v. 54, p. 83-93, 1978.
- LOWER, W. R.; THOMPSON, W. A.; DROBNEY, V. K.; YANDERS, A. F. Mutagenicity in the vicinity of a lead smelter. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, v. 3, p. 231-253, 1983b.
- LOWER, W. R.; YANDERS, A. F.; MARRERO, T. R.; UNDERBRINK, A. G.; DROBNEY, V. K.; COLLINS, M. D. Mutagenicity of bottom sediment from a water reservoir. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 4, p. 13-19, 1985.
- MA, T. H. Micronuclei induced by X-rays and chemical mutagens in meiotic pollen mother cells of *Tradescantia* - a promising mutagen test system. **Mutation Research**, v. 64, p. 307-313, 1979a.
- MA, T. H. *Tradescantia* micronuclei (Trad-MCN) test for environmental clastogens. In: KOLBER, A.R.; WONG, T.K.; GRANT, L.D.; DEWOSKIN, R.S.; HUGHES, T.J., ed. **In vitro toxicity testing of environmental agents. current and futurep. Part A: Survey of test systems**. New York: Plenum Press, 1979b. p. 191-214.
- MA, T. H. *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for *in situ* monitoring and mutagen screening. **Environmental Health Perspectives**, v. 37, p. 85-90, 1981.

- MA, T. H. *Tradescantia* cytogenetic tests (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis). A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 99, p. 293-302, 1982.
- MA, T. H. *Tradescantia* micronucleus test on clastogens and *in situ* monitoring. In: MENDELSON, M.L.; ALBERTINI, R.J., ed. **Mutation and the environment**. New York: Wiley-Liss, 1990. p. 83-90. (Progress in Clinical and Biological Research, 340).
- MA, T. H. Landfill or incineration - which is the better way to treat our solid wastes? **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 23, suppl. 23, p. 40, 1994.
- MA, T. H.; ANDERSON, V. A.; AHMED, I. Environmental clastogens detected by meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. In: TICE, R.R.; COSTA, D.L.; SCHAICH, K.M., ed. **Genotoxic effects of airborne agents**. New York: Plenum Press, 1982. p. 141-157. (Environmental Science Research, 25).
- MA, T. H.; ANDERSON, V. A.; HARRIS, M. M.; BARE, J. L. *Tradescantia*-Micronucleus (Trad-MCN) test on the genotoxicity of malathion. **Environmental Mutagenesis**, v. 5, p. 127-137, 1983.
- MA, T. H.; ANDERSON, V. A.; HARRIS, M. M.; NEAS, R. E.; LEE, T. S. Mutagenicity of drinking water detected by the *Tradescantia* micronucleus test. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 27, p. 143-150, 1985.
- MA, T. H.; CABRERA, G. L.; CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; CHEN, R.; LOARCA, F.; VANDENBERG, A. L.; SALAMONE, M. F. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 211-220, 1994a.
- MA, T. H.; CABRERA, G. L.; CHEN, R.; GILL, B. S.; SANDHU, S. S.; VANDENBERG, A. L.; SALAMONE, M. F. *Tradescantia* micronucleus bioassay. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 221-230, 1994b.
- MA, T. H.; GRANT, W. F. The *Tradescantias* - adventurous plants. **The Herbarist**, v. 48, p. 36-44, 1982.
- MA, T. H.; HARRIS, M. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) assay - a potential indoor pollution monitor. **Environmental Mutagenesis**, v. 9, suppl. 8, p. 65, 1987a.
- MA, T. H.; HARRIS, M. M. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay - a promising indoor air pollution monitoring system. In: SEIFERT, B.; ESDORN, H.; FISCHER, M.; RUDEN, H.; WEGNER, J., ed. **4th International Conference on Indoor Air Quality and Climate**. Berlin: Institute for Water, Soil, and Air Hygiene, 1987b. v.1 p. 243-247.
- MA, T. H.; HARRIS, M. M.; ANDERSON, V. A.; AHMED, I.; MOHAMMAD, K.; BARE, J. L.; LIN, G. *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) tests on 140 health related agents. **Mutation Research**, v. 138, p. 157-167, 1984.

- MA, T. H.; KONTOS, G. J., JR.; ANDERSON, V. A. Stage sensitivity and dose response of meiotic chromosomes of pollen mother cells of *Tradescantia* to X-rays. **Environmental and Experimental Botany**, v. 20, p. 169-174, 1980.
- MA, T. H.; NEAS, R. E.; HARRIS, M. M.; XU, Z.; COOK, C.; SWOFFORD, D. *In vivo* tests (*Tradescantia*- and mouse-micronucleus) and chemical analyses on drinking water of rural communities. In: SANDHU, S.S.; DEMARINI, D.M.; MASS, M.J.; MOORE, M.M.; MUMFORD, J.L., ed. **Short-term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures V**. New York: Plenum Press, 1987. p. 189-205.
- MA, T. H.; SANDHU, S. S.; PENG, Y.; CHEN, T. D.; KIM, T. W. Synergistic and antagonistic effects on genotoxicity of chemicals commonly found in hazardous waste sites. **Mutation Research**, v. 270, p. 71-77, 1992a.
- MA, T. H.; SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; NAUMAN, A. F. Effect of 1,2-dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of *Tradescantia*. **Mutation Research**, v. 58, p. 251-258, 1978.
- MA, T. H.; XU, C.; LIAO, S.; JEONG, B. S. Genotoxicity of landfill gaseous emission and leachates detected by *Tradescantia* plant bioassays. In: **Ecotoxicology and environmental chemistry - A global perspective**. Lisbon: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1993a. p. 304.
- MA, T. H.; XU, C.; LIAO, S.; JEONG, B. S.; LEATHERWOOD, R. *In situ* monitoring of gaseous emission from a municipal incinerator using *Tradescantia* micronucleus and *Tradescantia* stamen hair mutation bioassays. In: **Ecotoxicology and environmental chemistry - A global perspective**. Lisbon: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1993b. p. 304.
- MA, T. H.; XU, C.; LIAO, S.; MCCONNELL, H.; JEONG, B. S.; WON, C. D. *In situ* monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and an incinerator. **Mutation Research**, v. 359, p. 39-52, 1996.
- MA, T. H.; XU, J.; XIA, W.; JONG, X.; SUN, W.; LIN, G. Proficiency of the *Tradescantia* micronucleus image analysis system for scoring micronucleus frequencies and data analysis. **Mutation Research**, v. 270, p. 39-44, 1992b.
- MERICLE, L. W.; MERICLE, R. P. Mechanism of somatic mutation for flowers of hybrid *Tradescantia* (clone 02). **Genetics**, v. 56, p. 576-577, 1967.
- MERICLE, L. W.; MERICLE, R. P. Somatic mutations in clone 02 *Tradescantia*: A search for genetic identity. **Journal of Heredity**, v. 62, p. 323-328, 1971.
- MOHAMMAD, K.; MA, T. H. *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) and *Tradescantia*-Stamen Hair (Trad-SHM) tests on common pesticides. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 5, p. 370-371, 1983.
- NAUMAN, C. H.; KLOTZ, P. J.; SCHAIRER, L. A. Uptake of tritiated 1,2-dibromoethane by *Tradescantia* floral tissues: relation to induced mutation frequency in stamen hair cells. **Environmental Health Perspectives**, v. 19, p. 201-215, 1979.

- NAUMAN, C. H.; SCHAIRER, L. A.; SAUTKULIS, R. C.; KLUG, E. E. Influence of hyperthermia on the spontaneous, radiation- and chemical-induced mutation frequency in *Tradescantia* stamen hairs. **Radiation Botany**, v. 70, p. 632, 1977a.
- NAUMAN, C. H.; SCHAIRER, L. A.; SPARROW, A. H. Influence of temperature on spontaneous and radiation-induced somatic mutation in *Tradescantia* stamen hairs. **Mutation Research**, v. 50, p. 207-218, 1977b.
- NAUMAN, C. H.; SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A. Comparative effects of ionizing radiation and two gaseous chemical mutagens on somatic mutation induction in one mutable and two non-mutable clones of *Tradescantia*. **Mutation Research**, v. 38, p. 53-70, 1976.
- NAUMAN, C. H.; SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A. Low dose mutation response relationships in *Tradescantia*: Principle and comparison to mutagenesis following low dose gaseous chemical mutagen exposures. In: **Radiobiological Protection, First European Symposium on Rad-equivalence**: proceedings. Luxemburg: Commission of the European Community, 1977c. v. EUR 5725e, p. 13-23.
- NAUMAN, C. H.; SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; KLUG, E. E. Comparative effects of ionizing radiation and gaseous chemical mutagens on mutation induction in a mutable clone of *Tradescantia*. **Radiation Research**, v. 59, p. 153-154, 1974.
- NAUMAN, C. H.; UNDERBRINK, A. G.; SPARROW, A. H. Influence of radiation dose rate on somatic mutation induction in *Tradescantia* stamen hairs. **Radiation Research**, v. 62, p. 79-96, 1975.
- NAYAR, G. G.; GEORGE, K. P.; GOPAL-AYENGAR, A. R. On the biological effects of high background radioactivity: studies on *Tradescantia* grown in radioactive monazite sand. **Radiation Botany**, v. 10, p. 287-292, 1970.
- NAYAR, G. G.; SPARROW, A. H. Radiation-induced somatic mutations and the loss of reproductive integrity in *Tradescantia* stamen hairs. **Radiation Botany**, v. 7, p. 257-267, 1967.
- RODRIGUES, G. S.; MA, T. H.; PIMENTEL, D.; WEINSTEIN, L. H. *Tradescantia* bioassays as monitoring systems for environmental mutagenesis - a review. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 16, n. 4, p. 325-359, 1997.
- RODRIGUES, G. S.; MADKOUR, S. A.; WEINSTEIN, L. H. Genotoxic activity of ozone in *Tradescantia*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 36, n. 1, p. 45-50, 1996.
- RUIZ, E. F.; RABAGO, V. M. E.; LECONA, S. U.; PEREZ, A. B.; MA, T. H. *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay on clastogenicity of wastewater and *in situ* monitoring. **Mutation Research**, v. 270, p. 45-51, 1992.
- SAKAMOTO, E. T.; TAKAHASHI, C. S. Action of benlate fungicide on *Tradescantia* stamen hairs and *Allium cepa* root-tip cells. **Revista Brasileira de Genetica**, v. 4, n. 3, p. 367-381, 1981.

- SANDA-KAMIGAWARA, M.; ICHIKAWA, S. Identity of normal and mutant flower-color pigments in four different *Tradescantia* clones confirmed by means of microspectrophotometry. **Japanese Journal of Genetics**, v. 68, p. 137, 1993.
- SANDA-KAMIGAWARA, M.; ICHIKAWA, S.; WATANABE, K. Spontaneous, radiation- and EMS-induced somatic pink mutation frequencies in the stamen hair and petals of a diploid clone of *Tradescantia*, KU 27. **Environmental and Experimental Botany**, v. 31, n. 4, p. 413-421, 1991.
- SANDHU, S. S.; DE SERRES, F. J.; GOPALAN, H. N. B.; GRANT, W. R.; VELEMINSKY, J.; BECKING, G. C. Environmental monitoring for genotoxicity with plant systems: an introduction and study design. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 169-173, 1994a.
- SANDHU, S. S.; DE-SERRES, F. J.; GOPALAN, H. N. B.; GRANT, W. R.; SVENDSGAARD, D.; VELEMINSKY, J.; BECKING, G. C. Environmental monitoring for genotoxicity with plant systems: results and recommendations. **Mutation Research**, v. 310, n. 2, p. 257-263, 1994b.
- SANDHU, S. S.; MA, T. H.; PENG, Y.; ZHOU, X. Clastogenicity evaluation of seven chemicals commonly found at hazardous industrial waste sites. **Mutation Research**, v. 224, n. 4, p. 437-446, 1989.
- SAX, K.; EDMONDS, H. W. Development of the male gametophyte in *Tradescantia*. **Botanical Gazette**, v. 95, p. 156-163, 1933.
- SCHAEFFER, D. J.; NOVAK, E. W.; LOWER, W. R.; YANDERS, A.; KAPILA, S.; WANG, R. Effects of chemical smokes on flora and fauna under field and laboratory exposures. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 13, p. 301-315, 1987.
- SCHAIRER, L. A. Mutagenicity of ambient air at selected sites in the United States using *Tradescantia* as a monitor. In: KOLBER, T.K.; GRANT, L.D.; DEWOSKIN, R.S.; HUGHES, T.J., ed. **In situ toxicity testing of environmental agents. Current and future possibilities - Part A: Survey of tests**. New York: Plenum Press, 1979. p. 167-190.
- SCHAIRER, L. A.; SAUTKULIS, R. C. Detection of ambient levels of mutagenic atmospheric pollutants with the higher plant *Tradescantia*. In: KLEKOWSKI Jr., E.J., ed. **Environmental mutagenesis, carcinogenesis, and plant biology**. New York: Praeger, 1982. p. 155-194.
- SCHAIRER, L. A.; SAUTKULIS, R. C.; TEMPEL, N. R. Monitoring ambient air for mutagenicity using the higher plant *Tradescantia*. In: TICE, R.R.; COSTA, D.L.; SCHAICH, K.M., ed. **Genotoxic effects of airborne agents**. New York: Plenum Press, 1982. p. 123-140 (Environmental Science Research, 25).
- SCHAIRER, L. A.; VAN'T HOF, J.; HAYES, C. C.; BURTON, M. R.; DE SERRES, F. J. Measurement of biological activity of ambient air mixtures using a mobile laboratory for *in situ* exposure, preliminary results from the *Tradescantia* plant test system. In: WATERS, M.; NESNOW; HUISINGH; SANDHU, S.S.;

- CLAXTON, ed. **Application of short-term bioassays in the fractionation and analysis of complex environmental mixtures**. New York: Plenum Press, 1979. p. 419-440.
- SCHAIRER, L. A.; VAN'T HOF, J.; HAYES, C. C.; BURTON, R. M.; DE SERRES, F. J. Exploratory monitoring of air pollutants for genotoxicity activity with *Tradescantia* stamen hair system. **Environmental Health Perspectives**, v. 27, p. 51-60, 1983.
- SHARMA, C. B. S. R.; PANNEERSELVAN, N. Genetic toxicology of pesticides in higher plant systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 9, n. 5, p. 409-442. 1990.
- SHIMA, N.; ICHIKAWA, S. Synergism detected among methyl methanesulfonate, ethyl methanesulfonate and X-rays in inducing somatic mutations in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430. **Environmental and Experimental Botany**, v. 34, p. 393-408, 1994.
- SHIMA, N.; ICHIKAWA, S. Detection of synergism among different monofunctional alkylating agents with the stamen-hair system of *Tradescantia* clone BNL 4430. **Japanese Journal of Genetics**, v. 70, p. 724, 1995a.
- SHIMA, N.; ICHIKAWA, S. Mutagenic synergism detected between dimethyl sulfate and X-rays but not found between *N*-methyl-*N*-nitrosourea and X-rays in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430. **Mutation Research**, v. 331, p. 79-87, 1995b.
- SMITH, S. S.; LOFTY, T. A. Comparative effects of certain chemicals on *Tradescantia* chromosomes as observed at pollen tube mitosis. **American Journal of Botany**, v. 41, p. 589-593, 1954.
- SPARROW, A. H.; ICHIKAWA, S. Comparison of radiation-induced loss of reproductive integrity in the stamen hairs of a polyploid series in *Tradescantia*. **Radiation Botany**, v. 31, p. 636, 1967.
- SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A. Mutational response in *Tradescantia* after accidental exposure to a chemical mutagen. **Environmental Mutagen Society Newsletter**, v. 5, p. 16-19, 1971.
- SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A. The effects of chemical mutagens (EMS, DBE and specific air pollutants (O₃, SO₂, NO₂, N₂O) on somatic mutation rate in *Tradescantia*. In: BUBININ, N.P., ed. **Geneticheskie Poledstviya Zagryazneniya Okruzhayuschchei Sredy (Genetic effects of pollution in the environment)**. Moscow: Institute Obshchei Genetiki, 1974. p. 50-61.
- SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; MARIMUTHU, K. M. Genetic and cytologic studies of *Tradescantia* irradiated during orbital flight. **BioScience**, v. 18, p. 582-590, 1968.
- SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; VILLALOBOS, R. Comparison of somatic mutation rates induced in *Tradescantia* by chemical and physical mutagens. **Mutation Research**, v. 21, p. 238-239, 1973.

- SPARROW, A. H.; SINGLETON, W. R. The use of radiocobalt as a source of gamma rays and some effects of chronic irradiation on growing plants. **The American Naturalist**, v. 87, n. 832, p. 29-48, 1953.
- SPARROW, A. H.; SPARROW, R. C. Spontaneous somatic mutation frequencies for flower color in several *Tradescantia* species and hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, v. 16, p. 23-43, 1976.
- SPARROW, A. H.; UNDERBRINK, A. G.; ROSSI, H. H. Mutations induced in *Tradescantia* by small doses of X-rays and neutrons: analysis of dose-response curves. **Science**, v. 176, p. 916-918, 1972.
- STEFFENSEN, D. Induction of chromosome breakage at meiosis by a magnesium deficiency in *Tradescantia*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 39, p. 613-620, 1953.
- STEFFENSEN, D. Irregularities of chromosome divisions in *Tradescantia* grown on low sulfate. **Experimental Cell Research**, v. 6, p. 554-556, 1954.
- STEFFENSEN, D. Breakage of chromosomes in *Tradescantia* with calcium deficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 41, p. 155-160, 1955.
- STEINITZ, L. M. The effect of lack of oxygen on meiosis in *Tradescantia*. **American Journal of Botany**, v. 31, p. 428-443, 1944.
- TANO, S. Induced somatic mutations by radiation and chemicals in *Tradescantia*. **Mutation Research**, v. 181, n. 1, p. 209-214, 1987.
- TANO, S. *In situ* detection of induced mutations with chemicals by *Tradescantia*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 14, n. suppl. 15, p. 197, 1989.
- TANO, S. *In situ* detection of induced mutations with chemicals by *Tradescantia*. In: MENDELSON, M.L.; ALBERTINI, R.J., ed. **Mutation and the environment**. New York: Wiley-Liss, 1990. p. 57-66. (Progress in Clinical and Biological Research, 340).
- TANO, S.; YAMAGUCHI, H. Effects of low dose irradiation from ^{131}I on the induction of somatic mutations in *Tradescantia*. **Radiation Research**, v. 80, p. 549-555, 1979.
- TANO, S.; YAMAGUCHI, H. Effects of several nitroso compounds on the induction of somatic mutations in *Tradescantia* with special regard to the dose response and threshold dose. **Mutation Research**, v. 148, p. 59-64, 1985.
- TANO, S.; YAMAGUCHI, H.; UEDA, S. Effects of low dose tritium labeled thymidine and uridine on the induction of somatic mutations in *Tradescantia*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 24, p. 173-177, 1984.
- TAYLOR, J. H. The duration of differentiation in excised anthers. **American Journal of Botany**, v. 37, p. 137-143, 1950.
- TOMKINS, D. J.; GRANT, W. F. Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metobromuron and tetrachloroisophthalonitrile in *Hordeum* and

- Tradescantia*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 14, p. 245-256, 1972.
- UNDERBRINK, A. G.; CHAIRER, L. A.; SPARROW, A. H. The biological properties of 3.9-GeV nitrogen ions V. Determination of relative biological effectiveness for somatic mutations in *Tradescantia*. **Radiation Research**, v. 55, p. 437-444, 1973a.
- UNDERBRINK, A. G.; SCHAIRER, L. A.; SPARROW, A. H. *Tradescantia* stamen hairs: a radiobiological test system applicable to chemical mutagenesis. In: HOLLAENDER, A., ed. **Chemical mutagens - principles and methods for their detection**. New York: Plenum Press, 1973b. p. 171-207.
- UNDERBRINK, A. G.; SCHAIRER, L. A.; SPARROW, A. H.; ROSSI, H. H. Relative biological effectiveness of 0.43-Mev and lower energy neutrons on somatic aberrations and hair length in *Tradescantia* stamen hairs. **International Journal of Radiation Biology**, v. 19, p. 215-228, 1971.
- UNDERBRINK, A. G.; SPARROW, A. H. The influence of experimental endpoints, dose, dose rate, neutron energy, nitrogen ions, hypoxia, chromosome volume and ploidy level on RBE in *Tradescantia* stamen hairs and pollen. In: **Biological effects of neutron irradiation**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1974. p. 135-214.
- UNDERBRINK, A. G.; SPARROW, A. H.; SAUTKULIS, D.; MILLS, R. E. An elusive factor affecting mutation frequency in *Tradescantia* stamen hairs: its influence on RBE. **International Journal of Radiation Biology**, v. 28, p. 527-538, 1975a.
- UNDERBRINK, A. G.; SPARROW, A. H.; SAUTKULIS, D.; MILLS, R. E. Oxygen enhancement ratios (OERs) for somatic mutations in *Tradescantia* stamen hairs. **Radiation Botany**, v. 15, p. 161-168, 1975b.
- VAN'T HOF, J.; SCHAIRER, L. A. *Tradescantia* assay system for gaseous mutagens. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, v. 99, p. 303-315, 1982.
- VELEMINSKY, J.; BRIZA, J.; GICHNER, T. Benzamide increases the frequency of mutations induced by N-methyl-N-nitrosourea in higher plants: *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum* and *Arabidopsis thaliana*. **Biologisches Zentralblatt**, v. 106, n. 1 p. 67-71, 1987.
- VELEMINSKY, J.; GICHNER, T. Mutagenic activity of promutagens in plants: indirect evidence of their activation. **Mutation Research**, v. 197, n. 2, p. 221-242, 1988.
- VILLALOBOS-PIETRINI, R.; HERNANDES, R.; GUADARRAMA, M. D. L. A.; GOMEZ-ARROYO, S. Cytological detection of somatic mutations in *Tradescantia* induced by ethanol. **Cytologia**, v. 51, p. 211-218, 1986.
- WATERS, M. D.; STACK, H. F.; BRADY, A. L. **Genetic activity profiles of some chemicals found in hazardous wastes**. Research Triangle Park: Health Effects

Research Laboratory, Genetic Toxicology Division, 1987. (Internal Report. PB88-107537/XAB).

XIAO, L. Z.; ICHIKAWA, S. Mutagenic interactions between maleic hydrazide and X-rays in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430. **Japanese Journal of Genetics**, v. 70, p. 473, 1995.

XIAO, L. Z.; ICHIKAWA, S. Peroxidase activities in the floral tissues of *Tradescantia* clone BNL 4430 treated with maleic hydrazide alone, X-rays alone, or in combinations. **Genes and Genetic Systems**, v. 71, p. 151, 1996.

ANEXOS

Tabela 1. Resumo dos resultados de avaliações de genotoxicidade no ambiente empregando o ensaio Trad-MCN em atmosferas poluídas e poluentes atmosféricos.

Agente	Tempo de exposição-máx.	Dosagem Concentração ----- Distância da fonte	Resultado		Comentários	Referência
			+ / -	Significância estatística		
Monitoramento <i>In situ</i> Poluição do ar		4 - 6h	-	p < 0,01	Estacionamento-Chicago (IL-EUA) Ar fresco vindo de lago.	Ma et al., 1982
		1 - 4,5h	+	p < 0,01	Estacionamento-Decatur (IL-EUA).	28
		2 - 6h	+	p < 0,01	Estacionamento-Peoria (IL-EUA).	28
		2 - 4h	+	p < 0,01	Parada de ônibus e caminhões.	28
		2 - 3h	+	p < 0,01	Parada de ônibus e caminhões.	28
		2,5 - 5h	+	p < 0,01	Parada de ônibus e caminhões.	28
		3meses	+	p < 0,01	Área industrial, Granite City (IL-EUA).	28
		3,5h	+	p < 0,01	Área industrial, Granite City (IL-EUA).	28
		4,5h	+	p < 0,01	Área residencial, China.	28
		4 - 6h	+	p < 0,01	Indústria de pesticidas, China.	28
		5h	+	p < 0,01	Rodoviária, China.	28
		6h	+	p < 0,01	Fábrica de borracha, China.	28
		4h	+	p < 0,01	Escritório, China.	28
		3 - 6h	+	p < 0,01	Herbário tratado com bolas de naftalina, China.	28
		6h	+	p < 0,01	Fazenda de criação animal. Exaustão de chiqueiro suíno.	28
Fumaça de diesel	23- 70min	0,3- 4,2ppm	-	p < 0,01	Concentração medida como hidrocarbonetos. Fumaças geradas por motor ligado.	28
	23- 70min	6 -13ppm	+	p < 0,01	Concentração medida como hidrocarbonetos. Fumaças geradas por motor ligado.	28

continua >

Agente	Tempo de exposição máx.	Dosagem Concentração Distância da fonte	Resultado + / - Significância estatística	Comentários	Referência	
<i>Gases em câmaras</i>						
NO ₂	8 - 24h	5.0ppm	+	p < 0,01	Positivo apenas em longas exposições.	"
SO ₂	6 - 22h	1.0ppm	+	p < 0,01	Positivo apenas em longas exposições.	"
O ₃	5.5h	5.0ppm	+	p < 0,01	Exposições prolongadas não foram tentadas.	"
HN ₃	6h	136-272ppm	+	p < 0,01	Aplicação única do gás, sem renovação.	"
EMS	6h	1000ppm	+	p < 0,01	Idem ao anterior.	"
Benzol(a) pireno	8h	0,05 - 10mM	+	p < 0,01		Ma, 1981
1,2-dibromoetano	6h	5 - 80ppm	+		Coefficiente de correlação dose-efeito 0,99	Ma et al., 1979
Distrito industrial	6 - 12h		+	p < 0,01	Variabilidade sazonal, México.	Ruiz et al., 1992
Distrito residencial	6 - 12h		+	p < 0,01	Variabilidade sazonal, México	"
Distrito misto	6 - 12h		+	p < 0,01	Variabilidade sazonal, México.	"
<i>Fumaças químicas "Fogoll"</i>						
	30min	15 - 100m da fonte da fumaça	+	p < 0,1	Concentração de gases dada em termos relativos. Todas as distâncias produziram resultados positivos.	Schaeffer et al., 1987
Diesel para tanque	30min	15 - 100m da fonte	+	p < 0,1	Idem ao anterior.	"
Hexadecano Etano	30min	15 - 100m da fonte	+	p < 0,1	Idem ao anterior.	"
Emissão de aterro sanitário	4 - 6h		-		Respostas positivas em 5 de 13 experimentos. Gases queimados no dreno.	Ma et al., 1993
Incinerador municipal	4 - 6h	50 - 500m da fonte	+		Resultados positivos obtidos com atmosfera estagnada.	Ma et al., 1993
<i>Poluentes de interiores</i>						
Lavanderia a seco	15h		+	p < 0,05	Turno noturno	Ma and Harris, 1987
Casa	16h		+	p < 0,05	Após lavagem em carpete.	"
Casa	17h		+	p < 0,05	Ar limpo.	"
Fumaça de cachimbo	24h		+	p < 0,05	Escritório.	"
Sala para fumantes	10h		+	p < 0,05	Escola pública.	"
Edifícios	1 - 6h		+		Márias mães.	"
Gás formaldeído	1 - 6h		+		Relação dose-efeito positiva.	"

Tabela 2. Resumo dos resultados de avaliações de genotoxicidade de poluentes no ambiente aquático, empregando o ensaio Trad-MCN.

Agente	Dosagem Tempo de exposição- máx.	Concentração	Resultado + /- Significância estatística	Comentários	Referência
Poluição da água					
Água de abastecimento público	30h		+ p < 0,05	Tanto água do reservatório quanto da torneira produziram picos de frequência após a estação chuvosa.	Ma et al., 1985
Água de abastecimento público	30h		+	Águas do reservatório e de poços de média e pequena profundidades foram analisadas. A frequência de micronúcleos aumentou em seguida à estação chuvosa.	Ma et al., 1987
Exposição <i>in situ</i> no Lago Superior (Canadá)	24h		+ p < 0,05	Águas do Lago Superior do córrego afluente poluído por efluente de fábrica de papel e celulose.	Grant et al., 1992
Águas residuárias	30h	Diluição tripla	+ p < 0,01	Efluentes industriais presentes. Respostas positivas ocorreram ao longo de todo o ano.	Ruiz et al., 1992
Lixívia de aterro sanitário		Diluição de 20 vezes	+		Ma et al., 1993
Águas subterrâneas	30h	Diluição tripla	+ p < 0,05	Águas subterrâneas contaminadas com PAHs. Tratamento com luz UV aumentou a clastogenicidade.	Helma et al., 1993; Helma et al., 1994

Tabela 3. Resumo dos resultados de avaliações de genotoxicidade de contaminantes do solo, empregando o ensaio Trad-MCN.

Agente	Dosagem Tempo de exposição máx.	Concentração	Resultado +/-	Significância estatística	Comentários	Referência
Contaminantes de solo						
Lodo de esgoto	24h	Diluição quádrupla	+			Hopke et al., 1982
Aldrin	30h	2,0 - 36ppm	+	p < 0,05		Sandhu et al., 1989
Tetracloro etileno	2h	30ppm	+	p < 0,05	Positivo somente quando exposto na forma gasosa.	¹⁸
Trióxido de arsênico	30h	3,96ppm	+	p < 0,05	Diluído em NaOH.	¹⁹
1,2-benz(a,h) antraceno	30h	12,5ppm	+	p < 0,05	Diluído em etanol.	²⁰
Dieldrin	30h	3,81ppm	+	p < 0,05	Diluído em DMSO.	²¹
Heptacloro	30h	1,88ppm	+	p < 0,05	Diluído em DMSO.	²²
Tetracetato de chumbo	30h	0,44ppm	+	p < 0,05	Diluído em DMSO.	²³
Solo de depósito de resíduos perigosos	30h	0,5% extrato aquoso	+	p < 0,05	Mais de 5000ppm de PAHs.	Baud-Grasset et al., 1993a, b

Tabela 4. Resumo dos resultados de avaliações de genotoxicidade de pesticidas selecionados, empregando o ensaio Trad-MCN.

Agente	Dosagem		Resultado		Comentários	Referência
	Tempo de exposição-máx.	Concentração	+ / -	Significância estatística		
Pesticidas						
Mevinfós	3 - 12h	200 - 600ppm	+	p<0,001	Mitose em ponta radicular.	Ahmed and Grant, 1972a
Cianazina	3 - 12h	200 - 600ppm	+	p<0,001	Mitose em ponta radicular.	"
Panogen 15 [®] (mercurial)	1 - 3h	1 - 5ppm	+	p < 0,05	Mitose em ponta radicular.	Ahmed and Grant, 1972b
Malation	6h	5,5 - 1650ppm	-	p < 0,05	Absorção pela inflorescência e pulverização.	Ma et al., 1983
Malation	6h	0,25 - 0.65%	+	p < 0,05	Fumaça gerada por calor.	"
Diclorvós	1 - 6h		+		Inseticida	Ma and Harris, 1987
Benlate		0,05%	+			Huang and Chen, 1993a,b
Tiofanato		0,07%	+			"

Tabela 5. Resumo dos resultados de genotoxicidade de agentes químicos selecionados e estresses fisiológicos em *Tradescantia*.

Agente	Dosagem		Resultado		Comentários	Referência
	Tempo de exposição-máx.	Concentração	+/-	Significância estatística		
Agentes químicos selecionados						
EMS	24h	50 - 100mM	+		Soluções aquosas absorvidas pelas inflorescências.	Ma, 1979
9 categorias químicas					140 compostos estudados, sendo 52 positivos, 20 no limiar, e 5 tóxicos.	Ma et al., 1984
Estresses fisiológicos						
Anaerobiose	12 - 48h	Máx. 2% de oxigênio	+		Aumento em aberrações cromossômicas, incluindo micronúcleos em micrósporos.	Steinitz, 1944
Deficiência de magnésio	contínuo	< 1ppm	+	p < 0,001	Replicação cromossômica anormal e micronúcleos na meiose.	Steffensen, 1953
Deficiência em sulfato	contínuo	4,0ppm	+		Idem ao anterior.	Steffensen, 1954
Deficiência em cálcio	contínuo	2,5ppm	+	p < 0,001	Idem ao anterior.	Steffensen, 1955

Tabela 6. Resumo dos resultados de genotoxicidade em *Tradescantia* com especial referência a raios-X e outras formas de radiação ionizante.

Agente	Dosagem		Resultado		Comentários	Referência
	Tempo de exposição-máx.	Concentração	+/-	Significância estatística		
Radiação						
Raios-X	8min	75 - 200rad	+		Quebras ("breaks") nos cromossomos, principalmente em mitose	Sax, 1938
Raios-X	~ 5min	77 - 416rad	+	p < 0,05	Aberrações cromossômicas nos tubos polínicos e micrósporos e significância medida por coeficientes de ajuste exponencial dos dados.	Kirby-Smith and Daniels, 1953
Raios-γ de ⁶⁰ Co	30min	100 - 400rad	+	p < 0,01		"
Raios-β de ³² P	20min	100 - 400rep	+	p < 0,1		"
Raios-γ de ⁶⁰ Co	16d	0,41rad	+	p < 0,05	Micronúcleos em micrósporos.	Sparrow and Singleton, 1953
Raios-X em células tratadas com 5-FUdR	36h 5- FUdR + 2min	100rad + 10 ⁻⁶ M 5-FUdR	+	p < 0,05	Atraso mitótico resultando em número reduzido de trocas e quebras nas cromátides.	Rushton, 1969
Raios-X	segundos	20 - 40rad	+		Relação dose-efeito positiva para micronúcleos.	Ma, 1979
Raios-X	segundos	10 - 58rad	+		Coefficiente de correlação para dose-efeito 0,995.	Ma et al. 1980
Raios-X + ácidos tânicos	12h	35rad raios-X + 0,1 - 1,0mM ácidos tânicos	+		Interação sinérgica, relação dose-efeito positiva.	Knasmuller et al., 1992
Raios cósmicos	exposição <i>in situ</i> em satélite espacial		+		Aberrações cromossômicas incomuns, como translocações não-recíprocas e fragmentos esféricos.	Delone and Antipov, 1986
Radiação em: frequência de rádio	30h	Elétrica 40 - 170V/m Magnética - 0,01-0,11A/m	+	p < 0,05	Micronúcleos em tetrades, inflorescências em gaiolas de Faraday não diferiam dos controles laboratoriais.	Haider et al., 1994

.

Tabela 7. Resumo dos resultados de avaliações de mutagênese ambiental obtidos com o ensaio do pêlo estaminal em *Tradescantia* (Trad-SHM).

Agente	Tempo de Exposição máx	Dosagem Concentração	+ / -	Resultado Significância estatística	Comentários	Referência
Poluição atmosférica						
<i>Monitoramento in situ</i>						
Várias localidades poluídas nos EUA	10 dias		+	p < 0,05	Taxas de mutação mais altas, associadas com processamento de petróleo	(Schairer, 1979; Schairer & Sautkulis, 1982; Schairer et al., 1982)
Metalurgia de chumbo	Exposição crônica	0,3-11 km da fonte	+ / -	p < 0,001	Não ocorreu correlação entre taxa de mutação e distância da metalúrgica	(Lower et al., 1978; Lower et al., 1983b)
Refinaria de petróleo	Exposição crônica	100 - 500m da fonte	+	p < 0,001	Todos os testes foram estatisticamente positivos para uma localidade no Texas, em relação ao controle da casa de vegetação	(Lower et al., 1983a)
Emissões gasosas de um aterro sanitário	4 - 6h		+		Respostas positivas obtidas em 7 de 13 exposições. Gases queimados na fonte de emissão	(Ma et al., 1993a)
Incinerador municipal	4 - 6h		+		Resultados positivos obtidos com atmosfera estagnada	(Ma et al., 1993b)
Fumaças químicas	30min	15 - 100m da fonte	+	p > 0,9		(Schaeffer et al., 1987)
<i>Gases selecionados, em câmaras</i>						
NO	6h	250ppm	+	p < 0,01		(Schairer & Sautkulis, 1982; Van't Hof & Schairer, 1982)
NO ₂	6h	50ppm	+	p < 0,05		"
SO ₂	6h	40ppm	+	p < 0,01		"
OBE	6h	1ppm	+	p < 0,01		"
SEM	6h	5ppm	+	p < 0,01		"
Cloreto de vinila	6h	75ppm	+	p < 0,02		"
O ₃	6h	5ppm	+	p < 0,02		"
O ₃	11h/d	800pph	+	p = 0,68		(Gichner et al., 1992)
O ₃	6h/d	100pph	+	p > 0,05	Exposição cumulativa, por três dias	(Rodrigues et al., 1996)
Poluição da água						
<i>Monitoração in situ</i>						
Água de um lago	24h		+	p < 0,05	Lago poluído com efluentes de fabricação de papel e celulose. Resultados foram inconclusivos	(Grant et al., 1992)
Sedimento de fundo	Exposição crônica		+	p < 0,05	Taxas de mutação foram altas em todos os 91 dias do período experimental	(Lower et al., 1985)
<i>Agentes químicos selecionados, em solução</i>						
Benzo[a]pireno	24h	3,9x10 ⁻⁵ M	+	p < 0,01		(Schairer & Sautkulis, 1982; Van't Hof & Schairer, 1982)
Cafeína	Crônico	10 ⁻³ M	+	p > 0,05		"
NaN ₃	3h	10 ⁻³	+	p < 0,01		"
Benzidina	24h	5,4x10 ⁻³ M	+	p < 0,01		"
SEM	6h	10ppm	+		Relação dose-resposta positiva de 10 a 500ppm.	(Nauman et al., 1976)
DBt	6h	10ppm			Idem.	"
EMS	Agudo	100ng	+		Soluções químicas aplicadas diretamente sobre as inflorescências	(Ichikawa et al., 1990; Ichikawa & Takahashi, 1978; Sando-Kamigawara et al., 1991; Tano, 1987; Tano, 1990; Tano & Yamaguchi, 1985)

continua >

Agente	Dosagem		Resultado + /-	Significância estatística	Comentários	Referência
	Tempo de Exposição máx	Concentração				
EMS	Agudo	100ng	+		Soluções químicas aplicadas diretamente sobre as inflorescências.	(Ichikawa et al., 1990; Ichikawa & Takahashi, 1978; Sando-Kamigawara et al., 1991; Tano, 1987; Tano, 1990; Tano & Yamaguchi, 1985)
Compostos <i>N</i> -nitrosos	Agudo	100ng	+	“		“
Hidrazida maleica	Agudo		+		Ocorreu sinergismo com raios-X aplicados antes de hidrazida e supressão dos efeitos com raios-X aplicados <i>a posteriori</i> .	(Xiao & Ichikawa, 1995; Xiao & Ichikawa, 1996)
compostos <i>N</i> -nitrosos	24h	Vários	+			(Gichner et al., 1982b)
Pesticidas Atrazina	Crônico	0,045mg		$p < .01$	Dose aplicada por vaso	(Van't Hof & Schairer, 1982)
Menazon	24h	1500ppm	-	$p > .05$	Inflorescências embebidas com algodão embebido no pesticida.	(Tomkins & Grant, 1972)
Metobromuron	“	1500ppm	-	“	“	“
Tetracoloro	“	1500ppm	-	“	“	“
isoftalonitrilo						
Benomil	2h	4g/L	-	$p > 0,05$	Dose equivalente à recomendada para uso.	(Sakamoto & Takahashi, 1981)
Nove inseticidas		Vários	+/-		Resposta positiva em sete de nove compostos	(Huang & Chen, 1993a)
Radiação raios- γ de ⁶⁰ Co	16h	500R	+		Frequência de mutações diminuiram acima de 300R.	(Nayar & Sparrow, 1967)
Areia monazítica	Crônico	1,3mR/h	+	$p < 0,05$		(Nayar et al., 1970)
Raios-X	1min	160R	+		Relação dose-resposta positiva entre 10 e 160rad.	(Nauman et al., 1976)
Raios-X	1min	100R	+	$p < 0,01$	Relação dose-resposta positiva entre 0,25 e 5rad.	(Sparrow et al., 1972)
Nêutrons	1min	10R	+	$p < 0,01$	Relação dose-resposta positiva entre 0,01 e 8rad.	“
Radiação endógena	Agudo	100nCi	+		Compostos marcados com Trítio e ¹³¹ I. Relações dose-resposta positivas.	(Tano, 1987)
Exposição <i>in situ</i> a usinas nucleares	Crônico		+	$p < 0,05$	Aumentos significativos nas taxas de mutação estavam relacionados com períodos de operação das usinas e direção dos ventos.	(Ichikawa, 1981)
Solos das Ilhas Bikini	76d	150 μ R/h	+	$p < 0,01$	Radionuclídeos principais eram ¹³⁷ Cs e ⁶⁰ Co.	(Ichikawa & Ishii, 1991)
Exposição <i>in situ</i> a atmosfera contaminada	Crônico		+	$p < 0,05$	Logo após o acidente de Chernobyl. Plantas expostas em Cracóvia, 700km da fonte de radiação.	(Cebulska-Wasilewska, 1992)
Exposição <i>in situ</i> a atmosfera contaminada	Crônico		+		Logo após o acidente de Chernobyl. Plantas expostas no Japão, 8.000km da fonte de radiação.	(Ichikawa et al., 1996)

Embrapa

Meio Ambiente

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico


**BRASIL
EM AÇÃO**


**GOVERNO
FEDERAL**
Trabalhando em todo o Brasil